

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES TANINS VÉGÉTAUX

Leur dosage par le mélange chromique

THÈSE

POUR

L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(MENTION PHARMACIE)

Présentée et soutenue le 10 Février 1934

PAR

YOVAN M. TUCAKOV

Magister Pharmaciae de l'Université de Zagreb
Pharmacien-Capitaine de l'Armée Yougoslave
Pharmacien de l'Université de Nancy

NÉ LE 24 JANVIER 1905, A ČURUG

EXAMINATEURS DE LA THÈSE	{	MM. GILLOT	Président.
		VERNIER	Juges.
		CORDEBARD	

NANCY
IMPRIMERIE LORRAINE RIGOT & C^{ie}

1934



Digitized by the Internet Archive
in 2026

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES TANINS VÉGÉTAUX

Leur dosage par le mélange chromique

THÈSE

POUR

L'OBTENTION DU DIPLOME DE DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(MENTION PHARMACIE)

Présentée et soutenue le 10 Février 1934

PAR

YOVAN M. TUCAKOV

Magister Pharmaciæ de l'Université de Zagreb
Pharmacien-Capitaine de l'Armée Yougoslave
Pharmacien de l'Université de Nancy

NÉ LE 24 JANVIER 1905, A ČURUG

EXAMINATEURS DE LA THÈSE { MM. GILLOT . . . *Président.*
VERNIER . . . } *Juges.*
CORDEBARD . }

NANCY

IMPRIMERIE LORRAINE RIGOT & C^{ie}

1934

PERSONNEL ENSEIGNANT

Doyen honoraire :

M. BRUNTZ, *, ̄, I O, O ̄, *, *, Recteur de l'Université de Nancy.

Professeurs honoraires :

MM, FAVREL, *, I O.

BRUNTZ, *, ̄, I ̄, O ̄, *, *.

Doyen :

M. SEYOT, *, ̄, I O, ̄, *.

Assesseur :

M. GILLOT, I O, ̄.

Professeurs :

MM.	
GRÉLOT, *, I O, ̄.....	Pharmacie galénique.
DOURIS, I O, ̄, *.....	Toxicologie.
PASTUREAU, O *, I O, *.....	Pharmacie chimique.
SEYOT, *, ̄, I O, ̄ *.....	Histoire naturelle.
LASSEUR *, I O, ̄.....	Microbiologie.
GILLOT, I O, ̄.....	Matière médicale.
PRÉVOST, ̄.....	Chimie organique.

Agrégé libre :

M. GIRARDET, *, I O..... Chimie et Toxicologie.

Chargés de cours :

MM.	
PRÉVOST, ̄.....	Chimie minérale et Minéralogie.
GRÉLOT *, I O, ̄.....	Hydrologie.
PASTUREAU, O *, I O, *.....	Chimie biologique.
DONZELOT.....	Physique.
VERNIER, I O.....	Zoologie.
SIMONNET, I O.....	Législation et Déontologie.
GILLOT, I O, ̄.....	Pharmacotechnie.
CORDEBARD, ̄, I O.....	Analyse chimique.
SEYOT, *, ̄, I O, ̄, *.....	Hygiène.

Chefs de travaux :

MM.	
VERNIER, I O.....	Microbiologie et Parasitologie.
MEUNIER	Pharmacie.
CORDEBARD, ̄, I O.....	Chimie et Analyse chimique.
STEIMETZ.....	Micrographie.
DONZELOT (chargé de travaux).....	Physique.
DIVOUX (chargé de travaux).....	Chimie biologique et Toxicologie.

Secrétariat :

M. E. TRIBÔLET, I O..... Secrétaire.

La Faculté a arrêté que les opinions émises dans les dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leurs auteurs, et qu'elle n'entend ni les approuver ni les imputer.



A MES PARENTS
A MA FEMME ET A MA FILLE

Témoignage de ma profonde affection.

A MON MAÎTRE ET PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR P. GILLOT

Hommage de profonde gratitude

INTRODUCTION

Le dosage des tanins dans les végétaux est une question qui a préoccupé de nombreux auteurs. Or, parmi les multiples méthodes qui ont été proposées à cet effet, aucune n'est susceptible de fournir à l'analyste des résultats exacts et constants.

Cette insuffisance des procédés de dosage est due à la complexité des composés tanniques. Il est évident que les différents tanins, ayant une constitution et des propriétés fort variables, ne peuvent se comporter de façon identique vis-à-vis des réactifs employés pour les titrer. Or, la plupart des méthodes ont été établies en prenant comme base le tanin de la noix de galle et en appliquant les résultats obtenus aux autres tanins.

Nous avons pensé qu'il était nécessaire, avant de chercher une méthode de dosage, d'isoler, à l'état pur, les tanins à étudier, afin de déterminer leur nature et leurs propriétés. Ce programme nous a obligé à faire une étude documentaire approfondie de la question, à expérimenter les différentes techniques en usage, afin d'en déceler les imperfections. En possession de ces données, il nous a été possible de mettre au point une méthode de dosage présentant de nombreux avantages sur celles qui ont été utilisées jusqu'à ce jour.

Notre mémoire se trouve donc divisé en trois parties :

La première renferme des généralités sur les tanins (constitution chimique, classification, différenciation, etc.).

La deuxième est consacrée à l'essai et à la critique des principales méthodes de titrage (dosage par les alcaloïdes, par la formaldéhyde et par l'acétate de zinc ammoniacal).

La troisième est réservée à la technique que nous avons adoptée pour le dosage des tanins dans les végétaux.

Avant de commencer l'exposé de cette étude, réalisée au laboratoire de Matière médicale de la Faculté de Pharmacie de Nancy, qu'il nous soit permis d'exprimer les sentiments qui nous animent envers tous ceux qui, directement ou indirectement, ont facilité notre tâche.

Nous sommes heureux de profiter de l'occasion qui nous est offerte pour exprimer notre respectueuse gratitude à M. le Doyen et à MM. les Professeurs de la Faculté de Pharmacie, pour l'accueil qu'ils nous ont réservé au cours des deux années que nous avons passées en France.

Que M. le professeur GILLOT, l'inspirateur de notre travail, veuille bien agréer l'expression de nos très vifs remerciements et le témoignage de notre profonde reconnaissance. Non seulement il nous a accueilli dans son laboratoire, mais il n'a jamais cessé de nous prodiguer les conseils nécessaires pour mener nos recherches à bonne fin.

Nous adressons également nos remerciements les plus sincères à M. CORDEBARD, qui a bien voulu nous faire profiter de son expérience et nous initier aux applications de la méthode chromique.

Enfin, nous prions M. le docteur VERNIER, qui a bien voulu accepter de juger notre modeste travail, d'agréer l'expression de notre vive reconnaissance.

CHAPITRE PREMIER

GÉNÉRALITÉS SUR LES TANINS

Les tanins naturels sont des principes végétaux solubles dans l'eau, ayant la propriété de donner avec la peau fraîche une combinaison imputrescible et imperméable (cuir). La constitution chimique des tanins, sauf quelques rares exceptions, est mal connue. On sait seulement que le terme « tanin » ne correspond pas à un principe chimique défini, mais à un groupe de substances, à une série de composés très complexes possédant certaines propriétés chimiques et physiques communes. « La différence, au point de vue chimique et physiologique, entre le tanin de la noix de galle et le tanin de quebracho est aussi grande que la différence entre la glycérine et la phloroglucine; cependant les deux premiers sont astringents et les deux dernières sont sucrées (1). »

Etant dérivés des phénols polyvalents, les tanins donnent des réactions colorées avec les sels ferriques,

(1) K. FREUDENBERG. — *Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden*, Abderhalden, Abt. I, *Chem. Meth. Pflanz. Verbind.*, 1923, p. 441, Abréviation : *Abderhalden* 1923, 1, 441.

les sels de vanadium, de molybdène et le bichromate de potassium. Ils sont astringents et dextrogyres. Ils précipitent la plupart des alcaloïdes et la gélatine. Leurs solutions aqueuses présentent les propriétés des semi-colloïdes. Sauf quelques rares exceptions, les « tannates d'alcaloïdes » sont amorphes.

CONSTITUTION CHIMIQUE

Tanin des noix de galles, d'Alep et de Chine.

STRECKER (1) fut le premier à démontrer que le tanin de noix de galle d'Alep était un dérivé du glucose. Par hydrolyse avec de l'acide sulfurique étendu, il obtint, outre l'acide gallique, 15 à 22 p. 100 de sucre réducteur.

VAN TIEGHEM (2), en soumettant le tanin de noix de galle à l'action hydrolysante d'une « tannase » (*Penicillium glaucum* et *Aspergillus niger*), obtint également du glucose, mais en quantité moindre.

Un peu plus tard, SCHIFF (3) obtint synthétiquement l'acide digallique, lequel possède certaines propriétés du tanin de la noix de galle et lui servit de base à une hypothèse de la composition *depsidique* et non *glucosique* de ce tanin. D'après lui, le glucose

(1) STRECKER. — *Lieb. Ann.*, 1854, 90, 328; 1852, 81, 248.

(2) VAN TIEGHEM. — *Ann. Sc. Nat.* (5), Bot., 1867, 8, 210.

(3) SCHIFF. — *Lieb. Ann.*, 109, 165; 1873, 170, 43; 175, 105. *Ber. Chem. Ges.*, 1871, 4, 231, 967.

de STRECKER ne serait qu'une impureté résultant du mode de préparation de son tanin. D'après SCHIFF, l'acide digallique résulte de l'éthérification d'une molécule d'acide gallique par une autre molécule d'acide gallique, avec élimination d'une molécule d'eau :



Cependant, le composé obtenu, contrairement au tanin de noix de galle, n'avait pas d'action sur la lumière polarisée; il était peu soluble dans l'eau; sa teneur en carbone n'était que de 52,16 p. 100, etc.

En 1900, POTTEVIN (1), par hydrolyse biochimique (tannase) du tanin, caractérisa la présence de 13,50 pour cent de glucose.

Plus tard, parurent les remarquables travaux de E. FISCHER et de ses collaborateurs et, plus récemment, ceux de KARRER et de ses élèves, qui confirmèrent définitivement la présence du glucose dans le tanin de noix de galle.

En hydrolysant le tanin officinal avec de l'acide sulfurique à 5 p. 100 (72 h. à 100°), FISCHER et FREUDENBERG (2) obtinrent 11,50 à 13,80 p. 100 de glucose, 81,8 à 84,8 p. 100 d'acide gallique et 2,7 à 3,8 pour 100 d'acide ellagique.

FISCHER et BERGMANN (3), en hydrolysant de la même façon le tanin des noix de galle de Chine, obtin-

(1) POTTEVIN. — *C. R. Ac. Sc.*, 1900, 131, 1215; 1901, 132, 704.

(2) FISCHER u. FREUDENBERG. — *Ber. Chem. Ges.*, 1912, 45, 924.

(3) FISCHER u. BERGMANN. — *Ber. Chem. Ges.*, 1918, 51, 1772.

rent 6,8 à 7,9 p. 100 de glucose et 93,6 à 94 p. 100 d'acide gallique.

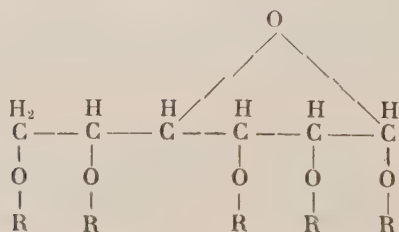
D'après FREUDENBERG, si STRECKER a trouvé une quantité supérieure de glucose (22 p. 100), c'est que le mode de préparation du tanin différait nettement du sien.

FISCHER et ses collaborateurs avaient obtenu synthétiquement toute une série d'éthers des alcools polyvalents et du glucose avec les acides phénolcarboniques. Notons seulement le penta-galloyl-glucose et le penta-digalloyl-glucose. Ce dernier produit a beaucoup de ressemblance, par ses propriétés chimiques et physiques, avec le tanin des noix de galle de Chine.

On a cru, tout d'abord, que l'acide gallotannique répondait à la formule : $C^6H^7O^6(C^{14}H^9O^8)^5$. Plus tard, FISCHER et BERGMANN furent obligés d'admettre que le penta-digalloyl-glucose était probablement un des composants du tanin de la noix de galle de Chine et qu'il n'était pas absolument pur. Il est beaucoup plus soluble dans les solvants organiques que le tanin chinois, et très peu soluble dans l'eau. Le penta-digalloyl-glucose aurait la formule brute suivante :

$C^{76}H^{52}O^{16}$. P. M. = 1700, C = 53,6, H = 3,1, O = 43,30.

Il correspondrait au schéma suivant :



R = radical digalloyl :



Il se trouve dans le commerce sous le nom d'*Acidum tannicum*, *pro analysi*, Gerbsäure, Tannin



Au cours de nos recherches, nous avons constaté que ce produit ne répond pas rigoureusement à la formule donnée ci-dessus.

ILJIN (1) avait démontré, en 1914, que le tanin chinois (noix de galle de Chine) ne constituait pas un corps pur, mais un mélange très complexe. Au moyen de l'acétate de zinc, il fractionna le tanin chinois du commerce, ainsi que le tanin préparé par le procédé de FREUDENBERG.

Plus tard (1923), KARRER, SALOMON et PEYER (2) confirmèrent l'hypothèse d'ILJIN. Ils fractionnèrent le même tanin au moyen de l'hydroxyde d'aluminium. Les différentes fractions furent décomposées par H^2S , reprises par l'éther acétique, puis de nouveau par l'eau, et examinées au polarimètre. Les premières fractions déviaient moins que les dernières :

$$[\alpha] \text{ D} = + 30^{\circ} \text{ à } + 158^{\circ}$$

(en solution aqueuse).

Les différentes fractions du tanin turc (noix de galle d'Alep), obtenues comme ci-dessus, avaient pour pouvoir rotatoire :

$$[\alpha] \text{ D} = + 15^{\circ}6 \text{ à } + 46^{\circ}78$$

(en solution alcoolique).

(1) ILJIN. — *Ber. Chem. Ges.*, 1914, 47, 985.

(2) KARRER, SALOMON et PEYER. — *Helv. Chem. Acta*, 1923, 6, 3.

Par hydrolyse de différentes fractions du tanin officinal avec de l'acide sulfurique à 5 p. 100, KARRER a pu constater que la teneur en glucose, dans les fractions isolées, est sensiblement constante (environ 12 pour cent). Par contre, la teneur en acide gallique et en acide ellagique varie beaucoup (76 à 82 p. 100 d'acide gallique et 8,8 à 2,1 p. 100 d'acide ellagique). Par conséquent, la teneur en acide ellagique et en glucose ne varie pas parallèlement; ce qui montre que l'acide ellagique ne serait pas combiné sous forme d'un simple glucoside.

Pour connaître la constitution intime du tanin officinal, KARRER a procédé à la dégradation des fractions isolées au moyen de l'acide acétique cristallisable et de l'acide bromhydrique. Des résultats obtenus, comparativement avec des glucoses galloylés synthétiques, l'auteur conclut que, dans le tanin officinal, le pentagalloyl-glucose ne préexisterait pas, mais serait un mélange de glucoses incomplètement galloylés. L'acide ellagique serait combiné probablement sous forme d'un glucoside spécial.

En effectuant divers essais sur le tanin chinois, KARRER a constaté que les fractions à pouvoir rotatoire élevé semblent porter, sur une molécule de glucose, 8 à 9 radicaux galliques. Les fractions à pouvoir rotatoire faible renfermeraient, à côté d'impuretés, une quantité plus grande d'acide gallique, combinée sous forme depsidique.

En tous cas, il est nettement établi que le tanin des noix de galles (Alep, Chine) est un mélange d'éthers du glucose et de l'acide gallique, et non un glucoside,

comme on le mentionne souvent à tort. Pour hydrolyser l'acide gallotannique, il faut le chauffer à 100°, pendant 72 heures, avec dix fois son poids d'acide sulfurique à 5 p. 100.

Dans certains tanins, l'acide ellagique serait combiné probablement sous forme glucosidique, car, comme tous les glucosides, l'acide ellagotannique est très facilement hydrolysable : les acides minéraux, étendus et à chaud, mettent l'acide ellagique en liberté presque quantitativement au bout de 30 minutes.

Il convient toutefois de faire remarquer que cette opinion n'est pas encore partagée par tous les auteurs. C'est ainsi que NIERENSTEIN (1) lui attribue une constitution plus complexe encore et considère le tanin de noix de galle comme le monoglucoside d'un gallotanin, qui serait l'anhydride polydigalloyl-dihydro-digallique.

Par leur parenté générique, leur rôle physiologique et leur mode de formation, les tanins ellagiques se rapprochent des tanins galliques et forment le groupe des tanins pyrogalliques.

Tel est l'état de nos connaissances sur la constitution chimique du tanin de noix de galle, le plus anciennement connu et le plus profondément étudié. Sa préparation à l'état de grande pureté est relativement facile.

Quant aux autres tanins, leur constitution chimique est bien moins approfondie, parfois même inconnue.

Tanins catéchiques.

La constitution chimique et le rôle physiologique des catéchines et des tanins catéchiques déborde

(1) NIERENSTEIN. — *Journ. Pharm. et Chim.*, 1926, 6, 271. *Ber. Chem. Ges.*, 1910, 43, 628.

l'étude des tanins et touche au domaine des matières colorantes végétales. Ce sont les moins bien connus, car les procédés employés ne permettent pas de les obtenir à l'état de pureté. Au bout de nombreuses opérations, on obtient un tanin pur, c'est-à-dire débarrassé de composés phénoliques simples, mais de teinte plus ou moins brun-rougeâtre, en partie oxydé, déshydraté, condensé ou hydrolysé.

Il n'existe pas de méthode générale d'isolement des tanins purs. Elle serait du reste défectueuse, en raison de la diversité de nature des tanins. Chaque auteur a suivi un mode opératoire particulier. En outre, presque toutes les analyses ont été faites sur des plantes sèches, ayant subi l'action destructrice des diastases.

Pour toutes ces raisons, et pour beaucoup d'autres encore, il est rare de voir deux auteurs donner des chiffres comparables pour une même plante ou pour un même organe. La plupart des données concernant les substances tanniques sont donc le plus souvent douteuses et discordantes.

CLASSIFICATION

TRIMBLE avait classé les tanins d'après leur teneur en carbone : 1° en tanins du type de l'acide gallo-tannique, renfermant 52,2 p. 100 de carbone (galles, châtaignier, grenadier, etc.) ; 2° en tanins du type de l'acide quercitannique (écorce de chêne, canaigre, ra-

tanhia, kino, cachou, tormentille, etc.), contenant environ 59,5 p. 100 de carbone.

Cette classification est évidemment défectueuse, car tous les tanins du premier groupe ne contiennent pas 52,2 p. 100 de carbone, de même que ceux du deuxième n'en renferment pas tous 59,5 p. 100. Néanmoins, elle nous a paru intéressante, non pour la richesse en carbone des tanins, mais pour leur teneur en oxygène.

En dosant les tanins, leurs composés phénoliques simples, leur tannoformes et leurs « rouges », nous avons fait les constatations suivantes :

1° Les tanins pyrogalliques et les composés phénoliques simples correspondants contiennent de 42 à 48 p. 100 d'oxygène (tanin offic. 44 p. 100; acide gallique 47; acide digallique 44,7; acide ellagique 42,4; acide ellagotannique 47,4; tanin de *geranium pratense* 46, etc.);

2° Les tanins catéchiques et leurs polyphénols respectifs ne contiennent que 29 à 38 p. 100 d'oxygène (phloroglucine 38; catéchine 33; résorcine 29; tanin de tormentille 34 à 35);

3° Les tanins mixtes contiennent une teneur intermédiaire en oxygène; celle-ci dépend de la proportion et de la nature des composants. C'est ainsi que le tanin de l'écorce de chêne contient de 35 à 40 p. 100 d'oxygène selon le mode de préparation adopté, le tanin de *geranium sylvaticum* environ 42,8, etc.;

4° Les « rouges » quercitanniques ne contiennent que 30 à 35 p. 100 d'oxygène et les « rouges » tormentillotanniques 26 à 30 p. 100 seulement.

D'après TSCHIRCH (1), la classification de DEKKER serait la plus convenable :

I. — *Corps simples* : acide gallique, acide ellagique, catéchine.

II. — *Vrais tanins* :

a) Groupe gallique (galles, thé, sumac) ;

b) Groupe ellagique (divi-divi, algarobille, myrobolans, grenadier) ;

c) Groupe de l'écorce de chêne (les nombreux tanins qui donnent les « rouges »).

III. — *Faux tanins* (café, maté, houblon).

PROCTER (2), en utilisant l'action des acides minéraux dilués sur les tanins et l'action de la potasse fondante sur les phlobaphènes et, d'autre part, d'après les réactions obtenues avec l'eau de brome, l'alun de fer, l'acide nitreux, etc., avait classé les tanins en tanins catéchiques purs et mélangés et en tanins pyrogalliques (v. *tableau p. 22*).

De son côté, STIASNY avait classé les tanins en tanins catéchiques et pyrogalliques; les premiers donnant un précipité avec la formaldéhyde et l'acide chlorhydrique à chaud, et les deuxièmes n'en fournissant pas.

D'autres auteurs (BAEYER et CLAUSER) ayant remarqué que les tanins pyrogalliques donnaient aussi un précipité, mais avec moins de facilité, STIASNY fut

(1) TSCHIRCH. — *Handb. d. Pharmakognosie*, Leipzig, 1923, 1, 33.

(2) JACOMET. — *Matières tannantes, cuirs*, Paris, Bérenger, 1911, 8 et 180.

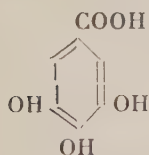
obligé de modifier plusieurs fois sa classification. Nous citerons celle qu'il donna en 1912 (1) (*v. tableau, p. 17*).

Une classification scientifique, qui tient compte des données chimiques les plus récentes relatives à la constitution des composés tanniques, est celle de FREUDENBERG (2) :

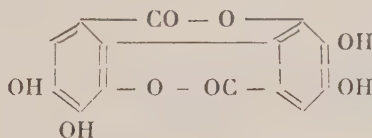
A. — TANINS HYDROLYSABLES.

(Ethers et glucosides.)

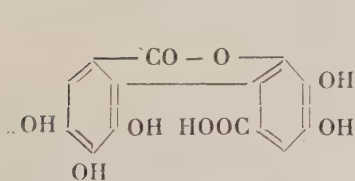
L'hydrolyse de ces tanins, sous l'influence des acides minéraux étendus à l'ébullition ou sous l'influence de la tannase (*Penicillium glaucum*, *Aspergillus niger*), fournit, outre le glucose, de l'acide gallique, de l'acide ellagique ou, plus rarement, de l'acide lutéolique :



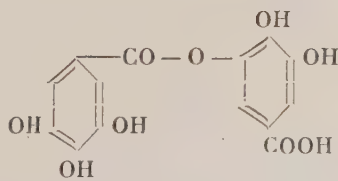
Ac. gallique.



Ac. ellagique.



Ac. lutéolique.



Ac. digallique

(1) STIASNY. — *Collegium*, 1912, 1, 483 ; 2, 1485.

(2) FREUDENBERG. — *Abderhalden*, 1923, 1, 442.

Dans les molécules de ces tanins, les noyaux benzéniques font partie de complexes, dont la liaison s'effectue par l'intermédiaire d'oxygène (voir le pentagalloyl-glucose de FISCHER, p. 4).

Ils sont peu colorés, facilement solubles dans l'eau. *Par distillation sèche, ils donnent du pyrogallol*, d'où leur nom de « tanins pyrogalliques ». Au contact des sels ferriques, ils se colorent et précipitent généralement en bleu noir. Ils ne donnent pas de précipité avec l'eau de brome.

a) *Tanins du type éther.* — Dans ces tanins, les noyaux benzéniques sont liés aux complexes sous forme d'éthers : classe des depsides et des tanins proprement dits.

1° Les *depsides* sont les éthers des acides phénolcarboniques avec ces mêmes acides ou d'autres oxyacides : l'acide lécanorique, l'acide chlorogénique (éther de l'acide quinique et de l'acide caféique), l'*acide digallique* (acide galloyl-gallique) ;

2° Les *tanins proprement dits* sont les éthers des oxyacides aromatiques avec les alcools polyvalents, les sucres et les glucosides.

Les composants acides trouvés jusqu'à maintenant sont : l'acide benzoïque (vacciniine, populine), l'acide cinnamique (tétrarine), l'acide p-oxybenzoïque (delphinine), l'acide lécanorique (érythrine), l'*acide gallique* (dans de nombreux tanins).

Ex. : Glucogalline (galloyl- β -glucose : dans la rhubarbe de Chine), tétrarine, acide hamaméli-tannique,

acide chébulique (myrobolans), *poly-galloyl-glucoses* (tanin de noix de galles de Chine et d'Alep), tanin de sumac (*Rhus coriaria*), puis les produits synthétiques, tels que : penta-galloyl-glucose et penta-digalloyl-glucose.

b) Tanins ellagiques. — Ces tanins renferment de l'acide ellagique, en combinaison non définie avec des sucres et, peut-être aussi, avec des acides phénolcarboniques. Dans certains tanins facilement hydrolysables, l'acide ellagique doit être combiné sous forme glucosidique.

B. — TANINS CONDENSÉS.

Catéchiques ou phlobatanins.

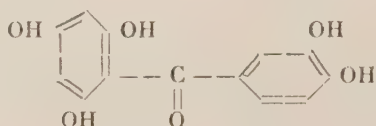
Ici, les noyaux phénoliques sont liés les uns aux autres *directement par le carbone*. Le type de ces tanins est représenté par le tanin du cachou. Ils ont une tendance marquée à la polymérisation, condensation et oxydation et donnent naissance à des produits fortement colorés, les *phlobaphènes* ou « *rouges* » tanniques. Ces produits de condensation sont très peu solubles. Le degré de l'insolubilité dépend de la déshydratation.

Certains tanins condensés ne renferment pas de sucre. Sous l'action des alcalis à chaud, ils fournissent de l'acide protocatéchique, presque toujours de la phloroglucine et souvent des acides gras. *La chaleur sèche fournit de la pyrocatechine*, d'où leur nom de « tanins catéchiques ». Les anthocyanes et les matières

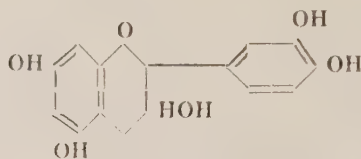
colorantes flavoniques se rapprochent beaucoup des tanins catéchiques. Il s'agirait d'anhydrides de « rouges tanniques », fournissant, eux aussi, par fusion alcaline, de l'acide protocatéchique et de la phloroglucine (1).

Les tanins condensés donnent un précipité avec l'eau de brome.

a) *Oxycétones aromatiques* : maclurine (penta-oxybenzophénone) :



b) *Catéchines et tanins catéchiques* :



Catéchine (de Gambir).

Les catéchines, comme les anthocyanes et les matières colorantes flavoniques, sont en général des combinaisons de la phloroglucine avec un autre noyau benzénique (le plus souvent pyrocatéchine), soudées par trois atomes de carbone. Les tanins catéchiques

(1) WILLSTÆTTER. — *Lieb. Ann.*, 1917. 412, 230.

amorphes seraient des produits de condensation des catéchines cristallisées. Les catéchines et les tanins catéchiques donnent, avec une grande facilité, les « rouges » tanniques ou phlobaphènes. *Ex.* : colatine, colatéine et tanin de cola; cacaol et tanin de cacao; cyanomacurine.

c) *Tanins de constitution indéterminée*, très variés et très complexes. Les uns peuvent être placés entre les oxycétones et les catéchines, comme le tanin de quebracho. Le tanin de pistacia doit renfermer une assez grande proportion d'un tanin catéchique; il en est de même des tanins de fougère mâle, de marronnier et de malleto. Tous ces tanins fournissent des « rouges » et, après fusion avec KOH, de la phloroglucine et de l'acide protocatéchique.

A ce groupe de tanins appartient aussi le tanin de l'écorce de chêne indigène (*Quercus Robur*); mais on n'est pas absolument certain que ce tanin fournisse de la phloroglucine par fusion alcaline. Le tanin des feuilles du *Quercus Robur* et celui du bois de châtaignier ne donnent pas de phloroglucine. Le tanin de canaigre et de l'écorce de quinquina donnent naissance aux « rouges » et, par fusion alcaline, fournissent de l'acide protocatéchique.

NOMENCLATURE

PERROT et GORIS (1) ont proposé la nomenclature suivante :

« Le nom de *tanoïdes* est réservé aux complexes existant dans les plantes fraîches et dont les produits de dédoublement seuls sont parfois de nature bien définie; un de ces produits de dédoublement au moins renferme un ou plusieurs groupements phénoliques dans sa molécule.

« Ces tanoïdes, sous des influences diverses, scindent leur molécule en donnant, entre autres, des composés qui seront ou bien des *tanides*, ou bien des *tanosides*.

« Plus que tous les autres composés chimiques, les *tanides*, par leurs propriétés, se rapprochent des substances habituellement désignées sous le nom de *tanins*.

« Les tanosides sont des combinaisons d'un tanide et d'un hydrate de carbone (sucre).

« Ces deux groupes de corps, tanides et tanosides, renferment toujours au moins un groupement phénolique et, en même temps qu'eux, il peut se séparer de la molécule complexe, soit un glucoside proprement dit, soit un alcaloïde.

« Dans les plantes fraîches, les tanoïdes se trouvent en présence de deux sortes de ferments, les uns hydratants, les autres oxydants. Les ferments hydratants dédoublent le complexe initial en donnant, suivant les

(1) PERROT et GORIS. — *Bull. Sc. Pharmacol.*, 1909, 16, 190.

cas, tanides ou tanosides libres; ils mettent en même temps en liberté glucosides ou alcaloïdes. A leur tour, les ferments oxydants agissent sur les produits du déboulement précédent : tanides ou tanosides, et leur action donne naissance, dans des cas nombreux, à des composés variables, connus déjà sous le nom de « *rouges phlobaphéniques* ».

DIFFÉRENCIATION QUALITATIVE

MÉTHODE DE STIASNY. — Si, à 50 cc d'une solution contenant environ 4 gr. de tanin par litre, on ajoute 25 cc d'un mélange contenant 20 cc de formol à 40 p. 100 et 5 cc d'acide chlorhydrique concentré, et si l'on fait bouillir pendant 30 minutes, avec réfrigérant ascendant, on observe après refroidissement complet :

1° *Précipité abondant.* — Le filtrat, saturé par l'acétate de sodium cristallisé, ne donne aucune coloration violette au contact de l'alun de fer.

Groupe I. — (Précipité avec l'eau de brome; pas de précipité avec l'acide acétique et l'acétate de plomb).
Subdivision au moyen de $(\text{NH}_4)^2\text{S}$:

- a) Pas de précipité : I a) coloration verte au contact de l'alun de fer : quebracho, mangrove, gambir, écorce de sapin, hemlock.

b) Précipité : I b) bleu violet au contact de l'alun de fer : mimosa et malleto.

2° *Pas de précipité après 15 minutes d'ébullition.* —
Groupe II (Pas de précipité avec l'eau de brome; précipité avec $(\text{NH}^4)^2\text{S}$).

Subdivision au moyen de l'acide acétique et de l'acétate de plomb; le filtrat au contact de l'alun de fer :

a) Aucune coloration : II a) chêne (bois), valonées.

b) Coloration violette : II b) châtaignier, myrobolans.

3° *Précipité notable après 15 minutes d'ébullition;*
filtrat saturé avec de l'acétate de sodium cristallisé donne, au contact de l'alun de fer, une coloration violet foncé.

Groupe III. — Subdivision au moyen de l'eau de brome :

a) Précipité : III a) *Pistacia lentiscus* (1).

b) *Pas de précipité* : III b) sumac, divi-divi, galles des fruits, bablah (*Acacia arabica*).

En utilisant la méthode de STIASNY pour différencier les tanins purs, préparés par nous au laboratoire, nous avons constaté qu'il était possible de compléter le tableau donné par l'auteur en rangeant le tanin de tormentille dans le groupe I a), les tanins de l'écorce

(1) D'après FREUDENBERG (*Abderhalden*, 1923, 1, 449), le tanin de *Pistacia* ne donne pas de précipité avec l'eau de brome.

de chêne et de *Geranium sylvaticum* dans le groupe III a) et le tanin de *Geranium pratense* dans le groupe III b).

En appliquant cette technique à des tanins purs, nous avons remarqué que les tanins catéchiques purs précipitent déjà à froid (quelques secondes après l'addition du réactif), tandis que les tanins catéchiques mixtes précipitent moins vite et que le tanin officinal ne précipite pas pendant l'ébullition (30 min.), mais seulement au cours du refroidissement. L'acide gallique pur précipite déjà au cours de l'ébullition (environ après 10 minutes) et le précipité augmente à froid. Sa précipitation, de même que celle des tanins pyrogalliques, n'est jamais complète.

D'autre part, en examinant les propriétés du galloforme et des divers tannoformes, nous avons constaté que le galloforme et le tannoforme du tanin officinal sont complètement solubles dans l'eau bouillante. Par contre, les tannoformes de tormentille, de marronnier (capsules), de ratanhia, de kino et de cachou sont complètement insolubles dans l'eau bouillante. Enfin, les tannoformes des tanins de l'écorce de chêne et des géraniums sont partiellement solubles (tanins mixtes).

La constatation de ces faits nous a fait envisager la possibilité d'établir une méthode susceptible de doser les tanins catéchiques purs et, dans le cas d'un tanin mixte, de déterminer sa teneur en tanin catéchique (v. p. 100).

Réaction du copeau de bois de sapin. — Si on verse 5 à 10 gouttes d'acide chlorhydrique concentré sur un

copeau préalablement imbibé de solution tannante, puis séché, on constate avec le gambir, le cachou, la fougère mâle, la tormentille, le marronnier, une coloration immédiate, violet-rouge. Avec l'écorce de chêne et le *Geranium sylvaticum*, la coloration n'apparaît qu'après quelques minutes.

Tous les tanins phlorogluciques semblent donner cette coloration; de telle sorte que cette réaction pourrait servir de contrôle à la réaction de STIASNY et à celle de l'eau de brome.

La phloroglucine pure donne une coloration violet-rouge très intense.

Les réactions avec la vanilline sulfurique et la p-diméthyl-amino-benzaldéhyde sulfurique sont du même ordre.

L'eau de brome donne un précipité avec de nombreux tanins. La réaction ne serait positive qu'avec les tanins catéchiques et à condition que la solution examinée contienne environ 6 gr. de tanin par litre. Avec les tanins catéchiques purs, le précipité se forme immédiatement.

L'acide nitreux est le réactif spécifique de l'acide ellagotannique. D'après PROCTER, l'acide ellagique libre ne donne pas cette réaction.

Dans une capsule de porcelaine contenant quelques centimètres cubes d'une solution tannante diluée, on ajoute 2 à 3 cristaux de nitrite de sodium et 2 à 4 gouttes d'acide sulfurique décimormal : dans les cas typiques, la solution devient immédiatement rose ou vermillon; puis la teinte passe lentement au rouge

pourpre et, finalement, au bleu indigo foncé. Dans les cas moins caractéristiques, la teinte finale est verte.

Mais, même dans les cas les plus nets (grenadier, myrobolans, *Geranium pratense*, etc.), il nous a été difficile de suivre cette gamme de coloration. La réaction était plus facile à suivre en opérant sur les tanins purs.

Pour confirmer cette réaction, nous avons hydrolysé les tanins au moyen d'acide sulfurique à 5 p. 100, à chaud. L'acide ellagique ainsi isolé a été caractérisé au microscope, puis avec de l'acide nitrique nitreux (coloration rouge sang intense). Il est insoluble dans l'eau, très peu soluble dans l'alcool froid, soluble dans l'alcool bouillant. (*Voir tableau de Procter au verso.*)

En appliquant la méthode de PROCTER pour différencier les tanins purs, préparés par nous au laboratoire, nous avons constaté qu'il était possible de compléter les tableaux donnés par l'auteur en rangeant le tanin de tormentille dans le groupe A, tableau III (tanin catéchique pur), les tanins de l'écorce de chêne et de *Geranium sylvaticum* dans le groupe D, tableau VII (tanins catéchiques mixtes) et le tanin de *Geranium pratense* dans le groupe H, tableau IX (tanin pyrogallique mixte : gallique, ellagique et catéchique).

Réactions colorées données par les sels métalliques et les alcalis.

1° *Sels ferriques.* — La réaction colorée la plus connue est celle que donnent les sels ferriques. Pour pouvoir apprécier la teinte obtenue, il faut opérer avec des solutions très diluées (alcooliques ou aqueuses).

TABLEAU DE PROCTER. — Classification qualitative des matières tannantes.

L'eau de brome donne un précipité purs ou mélangés)		L'eau de brome ne donne pas de précipité (Tanins pyrogalliques)		
L'acide nitreux ne donne pas de réaction ou bien la teinte fonce simplement		L'acide nitreux donne une coloration rouge qui passe au violet, puis au bleu ou au vert		
Noir verdâtre avec l'alun de fer (tan. catéch. purs)	Noir bleuâtre avec l'alun de fer (tan. cat. mél.)	Noir verdâtre avec l'alun de fer (tan. cat. purs)	Noir bleuâtre avec l'alun de fer	
Sulfate de cuivre, puis ammoniac en excès :		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Groupe A		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Précipité solub. dans un excès d' NH_3 en rouge violacé (I). Bois de cachou, etc.		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Précipité solub. dans un excès d' NH_3 en vert ou brun olive (II). Gambir, Melèze, Abies, etc.		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Précip. insol. d. un excès d' NH_3 (III). Saule, Acacia catechu (écorce), Quebracho, etc.		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Pistacia lentiscus, Canaigre, Ecorce de mimosa, Ecorce de bablah, etc.		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Groupe B		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Les chênes divers : Ecorce de Quercus : q. suber, q. coccifera, q. tinctoria, q. ilex, q. castanea.		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Groupe C		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Quercus robur (écorce),		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Groupe D		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Ce groupe ne comprend que la catéchine et l'acide de proto-catéchique qui ne sont pas des tanins.		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Groupe E		Noir bleuâtre avec l'alun de fer		
Groupe F		Noir bleuâtre avec l'alun de fer		
Groupe G		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Groupe H		Noir bleuâtre avec l'alun de fer		
Aucun terme de ce groupe n'est connu.		Noir verdâtre avec l'alun de fer		
Acide gallotannique. Ecailles de Bablah (Acacia arabica).		Noir bleuâtre avec l'alun de fer		

A 10 cc d'une solution contenant quelques milligrammes d'un tanin pyrogallique, on ajoute, avec précaution, une à deux gouttes d'une solution très diluée (0,10 à 0,20 p. 100) d'*alun de fer* (III), récemment préparée. La coloration varie du bleu pâle (en milieu alcoolique) au bleu foncé (en solution aqueuse).

L'emploi du perchlorure de fer concentré n'est pas recommandable, en raison de sa coloration et de son acidité. L'acide gallotannique pur lui-même ne donne pas toujours une coloration bleue, mais parfois une teinte vert foncé sale, surtout si l'on ajoute un excès de réactif.

Toutefois, la coloration bleue donnée par les sels ferriques n'est pas caractéristique des tanins pyrogalliques. La morphine, la vanilline, l'acide gallique et de nombreux composés phénoliques réagissent de la même manière.

Les tanins se colorant en vert au contact des sels ferriques fournissent des teintes beaucoup moins intenses. Dans les cas de tanins mixtes, une proportion insignifiante d'un dérivé pyrogallique suffit pour masquer complètement la teinte verte (écorce de chêne, géraniums).

C'est pour cette raison que la classification et le dosage des tanins basés sur les réactions colorées fournies par les sels ferriques sont défectueux.

La coloration que l'on observe au début doit être considérée comme étant seule caractéristique de la substance essayée; elle ne se produit ni à chaud, ni en présence des acides minéraux libres.

En cherchant une réaction de différenciation de l'acide gallique libre et combiné, nous avons remarqué que l'acide gallique pur, même dans les solutions très concentrées, donnait, au contact de l'alun de fer, une coloration bleu-violacé intense, mais que la liqueur restait longtemps limpide. Ce n'est que quelques heures après que l'on voit apparaître un louche et un précipité bleu-noirâtre. Dans les mêmes conditions, tous les tanins, même en solutions très diluées, donnent, au bout de quelques minutes, un louche, puis un précipité floconneux.

Ce fait nous a semblé intéressant à signaler, parce que la réaction de SIDNEY YOUNG (1) avec le cyanure de potassium n'est pas caractéristique de l'acide gallique libre à côté de l'acide gallique combiné.

2° *Cyanure de potassium*. — Quelques gouttes de la solution tannique à examiner étant placées dans un verre de montre, on ajoute 1 à 2 cc d'une solution aqueuse de cyanure de potassium. En présence d'une trace insignifiante d'acide gallique, la liqueur se teinte en rose, puis en rouge intense. La coloration pâlit, mais réapparaît de nouveau si on remue le verre de montre. On peut la faire réapparaître ainsi 15 à 20 fois.

Certains auteurs ont modifié ce mode opératoire. FREUDENBERG (2) imbibe une bande de papier-filtre d'une goutte de solution d'acide gallique et de cyanure de potassium. La teinte rouge atteint son maxi-

(1) S. YOUNG. — *Chem. News*, 1883, 48, 31.

(2) FREUDENBERG. — *Ber. Chem. Ges.*, 1919, 52, 1241.

mum vers la quinzième seconde, puis elle pâlit et laisse une tache jaune soufre intense.

En suivant les modes opératoires des deux auteurs, on s'aperçoit que le tanin officinal et les autres tanins galliques réagissent comme l'acide gallique libre.

La modification de FREUDENBERG n'a aucun avantage. La réaction est, en effet, moins spécifique, du fait que la porosité du papier-filtre favorise énormément l'hydrolyse de l'acide gallotannique par l'alcali du cyanure de potassium et que l'acide gallique naissant réagit à son tour, en donnant une teinte de plus en plus intense.

Il était nécessaire, pour nous, de contrôler la spécificité de cette réaction, car nos recherches qualitatives et surtout quantitatives (1) reposent, comme on le verra plus loin, sur l'existence d'un tanin exempt d'acide gallique. Or, le mélange chromique nous permet d'oxyder toute la molécule tannante et, par suite, de vérifier la pureté des tanins purs, isolés.

Tous les échantillons de tanin officinal que nous avons examinés (Rhône-Poulenc, Merck, Roessler, etc.) donnant une coloration rose-rouge avec le cyanure de potassium, nous avons pensé tout d'abord que ces produits renfermaient de l'acide gallique libre. Pour éliminer ce principe, tous les échantillons furent lavés à l'éther éthylique anhydre. Or, même après des lavages prolongés, la réaction au cyanure demeurait posi-

(1) Recherche d'un réactif susceptible de précipiter quantitativement les tanins, sans toucher à l'acide gallique ni aux autres corps phénoliques simples qui accompagnent le plus fréquemment les tanins.

tive, et offrait une coloration rose-rouge qui s'accroissait si on remuait le mélange. Afin de nous rendre compte que la coloration n'était pas due à une carbonatation partielle du cyanure employé, nous avons utilisé un cyanure Merck conservé en flacon hermétiquement clos. Nous avons observé la même sensibilité et la même intensité de réaction.

Le penta-digalloyl-glucose de Merck réagit même plus rapidement, avec le cyanure de potassium, que les tanins galliques naturels. L'acide digallique donne, de même, une coloration rose, disparaissant lentement et réapparaissant par agitation (1) ; mais la réaction est moins rapide qu'avec l'acide gallique.

Pour pouvoir conclure avec certitude à la présence de l'acide gallique libre, il faut donc l'isoler, l'examiner au microscope et le caractériser par les réactions colorées :

On lave le tanin anhydre à plusieurs reprises et le plus rapidement possible (pour éviter l'hydratation), avec de l'éther éthylique anhydre. L'éther est abandonné à une évaporation spontanée (plus l'évaporation est lente, plus grandes sont les aiguilles) dans une capsule de verre à fond plat. Le résidu, examiné au microscope, laisse voir des aiguilles soyeuses, incolores, très brillantes, groupées en houppes (2). Le contenu

(1) LANGENBECK. — *Biochem. Handlexik.*, Abderhalden, 1924, 9 (4), 477.

(2) Laisser évaporer dans les mêmes conditions une solution éthérée très diluée de l'acide gallique pur et comparer la forme des aiguilles et les réactions.

de la capsule est ensuite dissous dans quelques gouttes d'eau distillée, puis soumis à l'action du cyanure de potassium, de l'alun de fer, de l'acétate de plomb (précipité), de l'acétate de zinc ammoniacal (pas de précipité).

3° *Le sulfate de cuivre, les acétates de zinc et de fer* donnent des précipités colorés, plus ou moins solubles dans un excès d'ammoniaque. Nous avons remarqué que les tanins catéchiques donnent des précipités beaucoup plus solubles que les tanins pyrogalliques.

4° *L'acétate de plomb* précipite non seulement les tanins, mais aussi les nombreux composés phénoliques simples, les résines, etc.

5° *Le bichromate de potassium* donne tantôt une teinte brun foncé, tantôt un précipité brun et grenu. L'acide gallique, le pyrogallol et l'hydroquinone réagissent de la même façon.

6° *Les métaux alcalino-terreux* (eaux de chaux et de baryte) donnent des précipités de teintes très variées (blanc, brun, rouge) avec les divers tanins.

7° *Les alcalis et l'ammoniaque* donnent une teinte brun-noirâtre ou vert sale.

8° La plupart des tanins réduisent la liqueur cupropotassique et le chlorure d'or.

Réactions de précipitation.

La strychnine, la cinchonine et leurs sels précipitent les tanins, sans toucher ni à l'acide gallique ni aux autres composés phénoliques simples, ni aux antho-

cyanes du vin rouge. Les tanins catéchiques donnent des précipités moins abondants que les tanins pyrogalliques.

La gélatine précipite les tanins et ne touche pas à l'acide gallique, même en solutions très concentrées (10 p. 100). Mais en présence d'un électrolyte (NaCl), les solutions de gélatine, même très diluées, précipitent l'acide gallique, presque aussi bien que les tanins.

Action sur la lumière polarisée.

Le pouvoir rotatoire varie avec la concentration et le solvant. C'est ainsi que le tanin officinal donne :

En solution aqueuse à 20 %	$[\alpha]_D = + 45^\circ$ à 53° .
— — à 5 %	$[\alpha]_D = + 60^\circ$ (environ).
— — à 1 %	$[\alpha]_D = + 70^\circ$ à 75° .
— alcoolique. . .	$[\alpha]_D = + 23^\circ$ (environ).

ce qui semble indiquer que le pouvoir rotatoire varie avec l'hydratation, la grosseur des micelles, etc.

Il est impossible de déterminer le pouvoir rotatoire des tanins très colorés (chêne, tormentille), car tous les décolorants (charbon animal, papier-filtre) adsorbent plus ou moins complètement les principes actifs.

Dégradation et produits de dégradation.

I. — Action de la chaleur.

Les tanins préalablement desséchés, puis chauffés progressivement au bain de sable (jusqu'à 180° - 200°) donnent soit du *pyrogallol* (tanins pyrogalliques purs), soit de la *pyrocatéchine* (tanins catéchiques purs), ou simultanément l'un et l'autre (tanins mixtes). Dans

ce dernier cas, il est difficile de caractériser le pyrogallol en présence de la pyrocatechine, d'autant plus qu'ils sont toujours accompagnés d'autres produits de décomposition (matières empyreumatiques).

II. — Action des acides minéraux dilués.

a) Tanins pyrogalliques ou tanins hydrolysables = sucre réducteur + polyphénols.

b) Tanins catéchiques ou tanins condensés = rouges tanniques.

A) *Hydrolyse*. — Les tanins galliques, et surtout les tanins ellagiques s'hydrolysent déjà partiellement à une température inférieure à 50°. L'acidité des solutions tanniques accélère l'hydrolyse. C'est en présence des acides minéraux dilués, et surtout à chaud, que l'hydrolyse est le plus rapide.

D'après FISCHER (1), les glucosides sont les semi-acétals des sucres (glucose, rhamnose) avec les alcools, les phénols et leurs dérivés. Tandis que, dans les glucosides, la liaison entre le sucre et l'alcool, etc., s'effectue par un seul radical —OH, dans le tanin de noix de galle (et probablement aussi dans les autres tanins galliques), tous les oxydriles hydrocarbonés sont *éthérifiés* par autant de fonctions phénoliques. Cette soudure plus intime entre le sucre et le composé aromatique explique la résistance à l'hydrolyse (72 heures d'ébullition avec l'acide sulfurique à 5 p. 100).

B) *Condensation*. — Les tanins catéchiques ou phlobatanins sont plus résistants à l'action des acides dilués

(1) FISCHER. — *Ber. Chem. Ges.*, 1913, 46, 3281.

et donnent, au contraire, des produits plus complexes qui constituent toute une gamme de corps rouges, de moins en moins solubles dans l'eau, les solvants organiques et les alcalis. Cette insolubilisation augmente avec la température et la durée de l'ébullition. Les « rouges » sont des produits de condensation de plusieurs molécules des tanins catéchiques avec élimination de plusieurs molécules d'eau (anhydrides des tanins correspondants).

En augmentant progressivement la température et le temps d'ébullition, ETTI (1) avait obtenu quatre sortes de « rouge quercique », le dernier contenant quatre molécules d'eau de moins que le premier et étant le moins soluble.

Nous avons remarqué que tous les tanins signalés comme donnant naissance aux phlobaphènes dans la nature et aux rouges tanniques par les acides et à chaud, fournissent avec la formaldéhyde, en présence d'acide chlorhydrique, des *tannoformes insolubles*. Ces tannoformes semblent être des produits de condensation entre la formaldéhyde et les phlobatanins. La formaldéhyde, par ses propriétés polymérisantes, accélère en effet considérablement la précipitation et l'insolubilisation des phlobatanins.

Les produits résultant de l'hydrolyse peuvent fournir des résultats précieux au point de vue de la composition et de la constitution des tanins, à condition toutefois d'opérer uniquement sur les tanins isolés à l'état pur, et non sur le précipité plombique d'un extrait tannique.

(1) ETTI. — *Monatsh. für Chem.*, 1883, 4, 512.

Mode opératoire adopté pour l'hydrolyse.

Pour réaliser l'hydrolyse des tanins, nous avons opéré de la façon suivante : 2 gr. de tanin sont introduits dans un erlen de 300 cc et dissous dans 100 cc d'acide sulfurique à 5 p. 100 (en poids). La solution obtenue est portée à l'ébullition pendant 72 heures, au moyen de la veilleuse d'un bec Bunzen et avec réfrigérant ascendant. Le précipité est recueilli sur un creuset filtrant taré, puis lavé avec de l'eau bouillante jusqu'à obtention d'un filtrat incolore.

I. — *Le précipité* resté sur le filtre contient les « rouges » et, éventuellement, un peu d'acide ellagique qui aurait pu ne pas être entraîné par les eaux de lavage. Il est desséché à 102°, pesé et conservé pour être soumis à la fusion alcaline.

II. — *Le filtrat* est réuni aux eaux de lavage, puis concentré au bain-marie jusqu'à un volume de 12 à 20 cc. Après refroidissement, le liquide est agité dans une ampoule à décantation, avec de l'éther.

a) La solution éthérée est abandonnée à l'évaporation spontanée. Le résidu, examiné au microscope, montre des aiguilles cristallines groupées en houppes, caractéristiques de l'acide gallique et des granulations cristallines, jaune-verdâtre, caractéristiques de l'acide ellagique. Les résultats de l'examen microscopique sont confirmés par les réactions colorées des acides gallique et ellagique (v. p. 20 et 24).

b) La solution aqueuse, débarrassée de l'éther par chauffage au bain-marie, est traitée par un léger excès de solution d'acétate neutre de plomb (quelques cen-

timètres cubes), puis par du sulfate de sodium cristallisé (pour précipiter l'excès de plomb). Après filtration, le liquide doit être incolore et ne doit pas réagir au contact de l'alun de fer. Dans le cas contraire, on l'additionne de noir animal (1 gr.); on agite de temps en temps et, après quelques heures de contact, on filtre. Dans le filtrat, on procède à la recherche du glucose à l'aide du réactif cupro-potassique ou du réactif de Nylander.

Les tanins de tormentille, de chêne, de *Geranium pratense* et de *Geranium sylvaticum* nous ont fourni du glucose et des rouges. Les tanins de géraniums et de chêne ont donné de l'acide gallique et de l'acide ellagique (surtout celui de *Ger. pratense*).

III. — Action des alcalis sur les tanins.

A) *Tanins hydrolysables*. — Le tanin officinal, sous l'action des alcalis dilués à froid et en absence d'oxygène, est hydrolysé et donne de l'acide gallique. En présence de l'air, il se forme, à côté de l'acide gallique, une notable proportion d'acide ellagique et d'autres produits de condensation et d'oxydation plus ou moins colorés.

SISLEY (1) avait préparé l'acide ellagique en traitant le tanin officinal par une solution alcoolique de potasse et en abandonnant le liquide, pendant 6 à 8 jours, dans des cuvettes offrant une très grande surface. En adoptant son procédé, nous avons obtenu un rendement plus intéressant qu'en suivant celui de

(1) SISLEY. — *Bull. Soc. Chim.*, 1909 (4), 5, 727-750.

NIERENSTEIN (1), basé sur l'action du persulfate de potassium sur l'acide gallique en présence d'acide acétique concentré et à chaud.

Les tanins du type « éther », qui sont très résistants à l'action des acides et à chaud (tanin officinal) sont, au contraire, facilement hydrolysables par les alcalis et à froid. Par contre, les tanins glucosidiques sont plus résistants que les premiers à l'action des alcalis dilués. Cette différence peut être mise à profit pour la séparation de ces deux sortes de tanins, fréquemment mélangés.

B) *Tanins condensés* (catéchiques ou phlobatanins). — L'action des alcalis à chaud est plus particulièrement intéressante pour l'étude de la constitution des tanins catéchiques.

JACOMET (2) indique le mode opératoire suivant : « Lorsqu'on traite les tanins ou les phlobaphènes par de la potasse caustique, on obtient soit de l'acide protocatéchique et de la phloroglucine (tanins pyrogalliques), soit de l'acide protocatéchique, de l'acide acétique et d'autres acides gras (tanins catéchiques). 20 gr. de tanin ou de phlobaphène sont bouillis avec 150 cc de solution de potasse ($d = 1,2$) pendant 2 ou 3 heures. Le liquide se concentre jusqu'à devenir pâteux, puis l'alcali fond. Après refroidissement, on rend la masse franchement acide par l'acide sulfurique dilué, on filtre et on neutralise exactement par le bicarbonate de soude en présence du méthylorange. Le liquide est

(1) NIERENSTEIN. — *Biochem. Handlexik. Abderhalden*, 1912, 7, 8.

(2) JACOMET. — *Loc. cit.*, p. 6.

ensuite agité plusieurs fois avec de l'éther et la solution éthérée est évaporée : si le résidu contient de la phloroglucine, sa saveur est sucrée, sa solution aqueuse se colore en violet par le perchlorure de fer, et, si on le mélange avec du nitrate de toluidine ou d'aniline et qu'on y ajoute une solution très diluée de nitrite de potasse, le liquide devient graduellement jaune-brunâtre, puis rouge-orange et précipite finalement en rouge vermillon. »

Il convient de faire remarquer, tout d'abord, que ce ne sont pas les tanins pyrogalliques qui fournissent de la phloroglucine et de l'acide protocatéchique, mais les tanins catéchiques.

D'autre part, en suivant le mode opératoire décrit par JACOMET, il nous a été impossible de caractériser la phloroglucine, même en partant des tanins catéchiques les plus purs, tels que kino, cachou, tormentille, fougère mâle, etc. Cependant HLASIVETZ et PFAUNDLER (1) ont préparé de la phloroglucine en partant des tanins précités. Cet insuccès s'explique par ce fait que l'éther dissout non seulement la phloroglucine, mais aussi des acides protocatéchique, ellagique, digallique, pyrogallique, de la résorcine, des tanins non dégradés et des matières empyreumatiques fortement colorées. Le résidu, au lieu d'être sucré, est astringent, acide et désagréable. Examiné au microscope, il montre de nombreux cristaux, aiguillés ou tabulaires, englobés dans une masse brune, amorphe. Avec le perchlorure de fer, on obtient une coloration bleu vert foncé, pas-

(1) HLASIVETZ u. PFAUNDLER. — *Lieb. Ann.*, 127, 357; 134, 283.

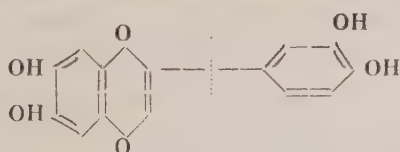
sant au rouge cerise intense par addition de soude (acide protocatéchique).

A notre avis, le perchlorure de fer est un mauvais réactif pour la caractérisation de la phloroglucine; il manque de sensibilité et de spécificité. Il en est de même du nitrate d'aniline et du nitrite de potassium.

Pour obtenir des résultats certains, il faut opérer sur les rouges tanniques provenant des tanins purs et préalablement lavés soigneusement à l'eau bouillante. Le quercitrin, la quercétine, les anthocyanes et divers composés phénoliques dérivant de la phloroglucine, qui accompagnent généralement les tanins, donnent aussi, et même plus facilement de la phloroglucine. L'existence de la phloroglucine dans presque tous les tanins, admise par les anciens auteurs, ne doit donc être acceptée qu'avec beaucoup de réserve.

En chauffant 2 gr. de quercitrin ou de quercétine avec 12 cc de potasse à 50 p. 100, à 150°-170°, nous avons obtenu de l'acide protocatéchique (en grande quantité) et de la phloroglucine.

HERZIG (1) avait obtenu de la phloroglucine en traitant la quercétine par une solution de potasse à 50 pour cent, en opérant à froid et au contact de l'air :



La première coupure de la molécule se fait à l'endroit où la phloroglucine est fixée à l'atome de car-

(1) HERZIG. — *Monatsh. für Chem.*, 1885, 6, 863.

bone du noyau aromatique. Si on chauffe brusquement à 200°-220° (anciens auteurs), on obtient beaucoup de matières empyreumatiques et de l'acide protocatéchique qui rendent la caractérisation de la phloroglucine impossible.

Une des meilleures études sur l'influence exercée par les alcalis à chaud sur les dérivés phlorogluciques est celle de WILLSTÆTTER (1) ; mais cet auteur a étudié l'action des alcalis sur les anthocyanes.

Ne pouvant obtenir des résultats satisfaisants avec les techniques précédentes, nous avons essayé d'isoler la phloroglucine, d'examiner ses caractères microscopiques et de la soumettre à certaines réactions colorées sensibles et spécifiques. Mais nous avons simplement amorcé cette étude, et n'exposerons ici que quelques résultats.

Mode opératoire adopté.

Les rouges provenant des tanins purs de tormentille, de chêne (écorce) et des *Geranium*, *sylvaticum* et *pratense* sont lavés et séchés. Ils sont ensuite mélangés à dix fois leur poids de potasse à 50 p. 100 et chauffés très lentement au bain de sable afin d'obtenir le maximum de phloroglucine et le moins possible de matières empyreumatiques et d'acide protocatéchique. La température de 160° à 190°, maintenue pendant deux heures, est suffisante. Le résidu de la fusion alcaline est dissous dans un peu d'eau et acidifié légèrement avec de l'acide sulfurique dilué.

I. — Une partie (la moitié) est agitée plusieurs fois avec de l'éther. Le résidu éthéré est examiné au micros-

(1) WILLSTÆTTER. — *Lieb. Ann.*, 1915, 408, 40 et 59; 1917, 412, 206.

cope : l'acide protocatéchique se présente sous forme d'aiguilles clinorhombiques, courtes, groupées en gerbes ou en oursins. Dissous dans l'eau, il donne une coloration vert foncé virant en rouge intense par addition de soude.

Si on précipite la solution aqueuse par l'acétate de plomb, si on ajoute quelques cristaux de sulfate de sodium et si on filtre, on obtient un filtrat qui, agité avec de l'éther, abandonne la phloroglucine.

II. — L'autre partie est précipitée par un excès d'acétate neutre de plomb. On ajoute quelques cristaux de sulfate de sodium et on filtre. Le filtrat est agité avec de l'éther. Le résidu éthéré contient de la phloroglucine, plus rarement de la résorcine. Au microscope, la phloroglucine se présente sous forme de tables ou de paillettes orthorhombiques, souvent sous l'aspect de feuilles de fougères. Le résidu est sucré. On le dissout dans quelques gouttes d'eau distillée et on imbibe, avec cette solution, un petit copeau de bois de sapin. Après dessiccation à l'air libre, le copeau est humecté avec quelques gouttes d'acide chlorhydrique concentré. Il prend, alors, une coloration violet rougeâtre intense. La réaction est extrêmement sensible et spécifique (la résorcine, l'hydroquinone, le pyrogallol, l'acide gallique, etc., donnent des teintes tout à fait différentes).

Les rouges tanniques de tormentille, de chêne et de géraniums nous ont fourni de l'acide protocatéchique; ceux de tormentille et de chêne nous ont donné, en plus, de la phloroglucine.

EPUISEMENT DES ORGANES VEGETAUX
EN VUE DE L'EXTRACTION
ET DU DOSAGE DES TANINS

L'eau, froide et chaude, l'alcool ordinaire, l'éther éthylique, l'éther acétique et l'acétone ont été le plus souvent utilisés pour l'extraction des tanins (1-2). L'industrie a adopté l'eau chaude et effectue l'opération par diffusion ou sous pression. En chimie végétale, malgré les nombreux travaux publiés sur la question, il n'existe pas de méthode générale pour l'épuisement des tanins des organes végétaux.

C'est ainsi que HUSEMANN et HILGER (3) citent cinq procédés d'extraction du tanin de l'écorce de chêne. JOHANSEN en indique trois : l'eau, l'alcool, l'eau et l'alcool employés successivement; soit huit procédés pour un seul organe.

MICHEL-DURAND (4) utilise l'acétone et l'eau bouillante. Il est exact que l'acétone *hydraté* soit un bon solvant de la plupart des tanins; mais l'acétone anhydre, ou très peu hydraté, est un excellent solvant des phlobaphènes, et non de tous les tanins. C'est ainsi que les phlobaphènes de tormentille et de chêne se

(1) NIERENSTEIN. — *Abderhalden*, 1909, 2, 996.

(2) GORTER. — *Lieb. Ann.* 1908, 358, 327; 359, 217.

(3) HUSEMANN et HILGER. — *Pflanzenstoffe*, Berlin, Springer, 1882, 1, 441.

(4) MICHEL-DURAND. — *Rev Génér. Botan.*, 1928-1929, 40 et 41.

dissolvent très bien dans l'acétone anhydre, tandis que leurs tanins y sont très peu solubles. Le pouvoir dissolvant de l'acétone dépend essentiellement de sa teneur en eau. M^{lle} HUBER (1) est arrivée à la même constatation. Il suffit d'ajouter une très faible quantité d'eau pour augmenter considérablement le pouvoir dissolvant de l'acétone.

L'exemple de l'éther est encore plus démonstratif. C'est ainsi que le tanin officinal (tanin à l'éther) est soluble dans l'éther *hydraté*, tandis qu'il ne cède sensiblement rien à l'éther pur et sec (2). C'est, d'ailleurs, cette propriété qui permet de purifier le tanin officinal. Nous l'avons également mise à profit pour purifier tous nos tanins. Ceux-ci ont été lavés avec de l'éther anhydre pour enlever les composés phénoliques simples qui les accompagnent : acides gallique et ellagique, quercétine, quercitrin, etc. Les tanins purs de tormen-tille, de chêne et de géraniums ont été précipités presque quantitativement avec de l'éther, d'une solution saturée dans l'alcool (*v. p.* 89).

L'acétone, ainsi d'ailleurs que les autres solvants organiques utilisés, dissout non seulement les tanins, mais aussi les résines, la phlobaphène, etc. Pour préparer ou pour doser directement les tanins, on est obligé d'opérer toujours en milieu aqueux (sans cette précaution, tous les non-tanins se trouvent dosés comme tanins). Par conséquent, les extraits acétoniques doivent être évaporés, puis repris avec de

(1) HUBER. — *Jahrbüch für wissenschaftl. Botan.*, 1929, (2), 70, 289.

(2) Formulaire pharm. du Service de Santé de l'armée, 1930, 1, 442.

l'eau (1). Les solutions aqueuses obtenues sont troubles, car les phlobaphènes et les résines dissoutes par les solvants organiques ne sont pas solubles dans l'eau. La filtration provoque inévitablement une certaine perte en tanin (adsorption, brunissement, insolubilisation, etc.). Le déficit est encore plus considérable, lorsqu'on opère avec l'acétone bouillant.

Les dissolvants organiques présentent un certain nombre d'autres inconvénients. C'est ainsi que l'alcool provoque dans certains tanins l'alcoolyse (2). D'autre part, si l'éther convient pour extraire les tanins pyrogalliques, il n'en est pas de même en ce qui concerne les tanins catéchiques.

Recherche d'un solvant ou d'un système de solvants.

En présence des inconvénients que présentent les solvants organiques, nous nous sommes efforcé de trouver un solvant ou un système de solvants permettant d'extraire complètement les tanins avec peu de liquide. Il nous fallait, en effet, obtenir des solutions renfermant 0,3 à 0,4 p. 100 de tanin et, d'autre part, employer un véhicule susceptible d'empêcher, autant que possible, le brunissement et l'hydrolyse des tanins. Cette deuxième condition est d'une importance capitale et n'est généralement pas réalisée avec les procédés habituels d'obtention des solutions tanniques.

(1) MICHEL-DURAND. — *Loc. cit.*

(2) FREUDENBERG. — *Abderhalden*, 1923, 1, 454.

Nous avons remarqué que les tanins purs se conservent très longtemps, sans aucun changement, dans le vide sulfurique ou, à défaut, en flacons jaunes, bien bouchés et paraffinés.

Les solutions récentes des tanins et des composés phénoliques simples sont limpides, incolores ou peu colorées. A la longue, elles brunissent, se troublent et précipitent. Les rhizomes frais de tormentille, de *geranium*, de fougère mâle, les écorces de chêne, de marronnier et les autres organes de nombreuses plantes tannantes; les pommes, les coings, etc., découpés, brunissent rapidement à l'air. Le brunissement est d'autant plus rapide que la division est plus poussée, la dessiccation plus rapide et la température plus élevée. Nous avons suivi les différentes conditions dans lesquelles s'opère le brunissement. A cet effet, nous avons conservé certains organes dans un vide sulfurique très poussé. Nous avons immergé d'autres échantillons dans de l'eau distillée bouillie et refroidie à l'abri de l'air.

Dans le deuxième cas, nous avons constaté que les organes ainsi traités brunissaient plus lentement que les témoins abandonnés pendant le même temps dans le vide.

Dans une eau alcalinisée avec une goutte de soude à 10 p. 100, le brunissement est extrêmement rapide. Plus l'eau est alcalinisée, plus le brunissement est rapide. Par contre, dans l'eau additionnée d'une goutte d'acide sulfurique à 10 p. 100, les organes conservent leur teinte normale pendant des semaines.

Nous avons effectué des expériences du même genre avec différents tanins purs. Mais c'est avec les composés phénoliques simples que nos essais furent le plus démonstratifs (acides gallique et ellagique, pyrogallol, phloroglucine...). Dans tous les cas, en milieu légèrement acide (0,20 à 0,25 p. 100 d'acide sulfurique ou oxalique), les solutions restent incolores pendant des semaines.

SENGLET (1) a constaté que le noircissement, au cours de la mélanogénèse, ne se produit pas en milieu acide. Le seul fait clairement prouvé par ses expériences est qu'il y a noircissement en présence de bicarbonate de sodium.

EVARD (2) a observé que les organes du *Juglans regia*, du *Plantago*, du *Vicia Faba*, des pommes, etc., ne changent pas de couleur en milieu acide, même en présence d'une notable quantité d'oxydase (tyrosinase). Déjà, en milieu neutre, le brunissement commence à se manifester pour atteindre son *maximum* vers pH 8, même en l'absence complète des oxydases.

BARRIER (3), en étudiant les réactions oxydasiques et le brunissement de la pomme, a constaté également que la coloration ne se manifeste pas en milieu légè-

(1) SENGLÉT. — La mélanogénèse chez quelques plantes d'un intérêt pharmac. *Th. Doct. Pharm.*, 1929, Genève.

(2) EVARD. — Ferments oxydants, *Th. Doct. ès Sciences*, Genève, 1928.

(3) BARRIER. — Ferments solubles oxydants directs, *Th. Pharm. Sup. 1^{re} cl.*, 1921, Lyon.

rement acide et qu'elle est accélérée par la dessiccation et le milieu alcalin.

MEUNIER (1), en étudiant la mélanogénèse chez le *Lathyrus niger*, constate que le noircissement apparaît seulement après la mort des tissus et la mise en liberté d'hydroquinone (par hydrolyse de l'arbutoside).

L'industrie emploie, dans certains cas, l'eau additionnée au préalable d'acide sulfurique ou, mieux, d'acide oxalique (pour l'extraction des tanins) (2).

Tous ces faits et travaux permettent de se rendre compte que *les ferments ne sont pas toujours les seuls agents responsables des changements de coloration des drogues*. C'est ce que prouvent, d'ailleurs, les expériences suivantes : 150 gr. d'un échantillon moyen de rhizomes frais de *Geranium sylvaticum*, découpés en petits fragments à l'aide d'un couteau à lame inoxydable, ont été divisés en trois lots :

1° 50 gr. furent introduits immédiatement dans l'eau distillée acidulée par l'acide sulfurique ou oxalique (0,20 p. 100) ;

2° 50 gr. furent stabilisés immédiatement par la vapeur d'eau sous pression (5 min. à 105°) ;

3° 50 gr. furent desséchés à l'air libre, à la température du laboratoire.

Dans le premier cas, les organes avaient conservé leur teinte naturelle pendant plusieurs semaines. Dans le deuxième et le troisième cas, les rhizomes présen-

(1) MEUNIER. — Glucides du genre *Lathyrus*, *Th. Doct. ès Sc.* 1933, Nancy, p. 221.

(2) WURTZ. — *Dict. Chim. pure et appliq.* Supplém. 1908, p. 659.

taient une section brun foncé, beaucoup plus teintée à l'extérieur qu'à l'intérieur. *La stabilisation n'a donc pas empêché le brunissement.* Or, comme la dessiccation amène le pH du suc vers l'alcalinité, les plantes renfermant des tanins et surtout des composés phénoliques simples (cas général), brunissent par suite de l'hydrolyse, puis de la condensation et de la déshydratation de ces principes. Ces transformations ne semblent pas être dues à une oxydation, car tous ces produits insolubilisés et bruns (acide ellagique, phlobaphènes) renferment moins d'oxygène dans leur molécule, que les produits d'origine.

Les précipités formés, à la longue, dans les solutions des tanins sont constitués, en général, soit par de l'acide ellagique (tanins pyrogalliques), soit par des phlobaphènes (tanins catéchiques).

Pour hydrolyser les tanins avec les acides, il faut les chauffer plusieurs jours (à 100°) ; cependant, ils sont très facilement hydrolysés déjà à froid par les alcalis. Il est à noter que les produits d'hydrolyse (polyphénols) se colorent beaucoup plus vite que les tanins correspondants ; car, dans les molécules tannantes, certaines fonctions phénoliques sont éthérifiées par le glucose.

Il nous semble donc plus vraisemblable d'admettre que les changements de coloration résultent d'une auto-condensation, polymérisation ou déshydratation consécutive à une hydrolyse, dont la cause serait le changement du pH.

Tous ces faits justifient l'emploi de l'eau acidulée (à froid) comme véhicule extractif des tanins. Et c'est

pourquoi nous l'avons adoptée comme solvant (v. p. 83) dans tous nos essais.

Du reste, TURNBULL, PARKER, FREUDENBERG et d'autres auteurs ont toujours considéré l'eau comme le meilleur dissolvant des tanins.

ISOLEMENT DES TANINS A L'ETAT PUR

En chimie végétale, malgré les nombreux travaux publiés sur la question, il est impossible de trouver une méthode générale pour la préparation des tanins à l'état pur. En effet, la plupart des essais ont été effectués sur le tanin officinal, alors que les autres tanins sont très différents de l'acide gallotannique par leurs propriétés physiques et chimiques. Dans certains cas, le tanin est obtenu en partant d'un extrait commercial, dont la pureté et l'origine sont presque toujours suspectes. Enfin, tous ceux qui ont pris les plantes comme matière première sont partis d'organes secs, dans lesquels les tanins avaient subi de profondes modifications (oxydation, condensation, hydrolyse, etc.).

Les méthodes proposées varient avec les auteurs et les végétaux considérés. Ainsi LÖWE (1) a préparé le tanin de divi-divi (*Caesalpinia coriaria*) en épuisant les organes par l'alcool; l'alcool est évaporé, le résidu est dissous dans l'eau et la solution aqueuse est addi-

(1) LÖWE. — *Zeitschr. für Anal. Chem.*, 1876, 14, 40.

tionnée de chlorure de sodium. Le tanin ainsi précipité est dissous par l'éther acétique. L'auteur recommande le même procédé pour la préparation des autres tanins ellagiques. GILSON (1) avait isolé, de la même façon, le tanin de rhubarbe. HEYL (2) précipite un extrait alcoolique de *Sequoia gigantea* avec de l'éther. Mais la plupart des auteurs ont eu recours à l'acétate de plomb. Le tannate de plomb est décomposé par l'hydrogène sulfuré. La solution obtenue est évaporée au bain-marie ou lavée avec de l'éther et évaporée dans le vide (auteurs modernes). Certains ne prennent que les fractions moyennes de tannate de plomb, qu'ils décomposent par l'hydrogène sulfuré et dont ils évaporent les solutions aqueuses.

L'acétate neutre de plomb est préférable à l'acétate basique, car ce dernier peut précipiter des sucres (mannose) (3) et des hétérosides (oleuropéoside, jasmifloroside, vincoside, esculoside, etc.).

La méthode que FREUDENBERG a appliquée, pour la préparation du tanin des feuilles de chêne, nous a semblé la plus scientifique et nous l'avons suivie, avec quelques modifications, dans nos recherches originales (v. p. 87).

En appliquant cette méthode de FREUDENBERG à l'écorce de chêne, à la tormentille et aux géraniums, il nous a été impossible d'obtenir des tanins solubles.

(1) GILSON. — *Chem. Zentr.*, 1903, 1, 722, 822.

(2) HEYL. — *Pharm. Zentralh.*, 1901, 42, 383.

(3) FISCHER. — *Ber. Chem. Ges.*, 1889, 22, 1155.

Tous les produits étaient colorés en rouge vif, insolubles ou très peu solubles dans l'eau.

Nous attribuons cette altération des tanins à différentes causes :

1° Les organes étant traités par l'eau bouillante, l'acidité du suc cellulaire à cette température suffit pour provoquer l'hydrolyse des tanins glucosidiques et le rougissement des tanins catéchiques ;

2° L'acide acétique provenant de l'acétate de plomb employé n'étant pas éliminé avant la concentration, détermine l'hydrolyse et l'insolubilisation presque complète des tanins (surtout catéchiques) ;

3° La décomposition du tannate de plomb par l'acide sulfurique fournit des liquides toujours très colorés ; ce qui ne se produit pas lorsqu'on décompose le tannate par l'hydrogène sulfuré.

Afin d'éviter ces causes d'altération, nous avons eu recours à différents essais :

1° Pour éviter toute action des diastases, nous avons essayé de stabiliser les organes dès la récolte (5 min. à 105°). Or, ce traitement, loin d'avoir empêché le brunissement des organes, semble l'avoir favorisé ;

2° Supposant que ces phénomènes étaient dus à une oxydation des tanins, nous avons alors eu recours à plusieurs anti-oxydants. L'acide sulfureux nous a fourni de très bons résultats et nous a permis d'obtenir des produits peu colorés et facilement solubles dans l'eau. Malheureusement, il donne une combinaison

assez stable avec les tanins (1), ce qui présente un réel inconvénient pour les dosages par oxydation. En outre, l'acide sulfureux est susceptible de provoquer l'hydrolyse des tanins hydrolysables, surtout glucosidiques.

(1) JACOMET. — *Loc. cit.*, p. 60.

CHAPITRE II

MÉTHODES DE DOSAGES DES TANINS

Généralités et critiques.

Il semble difficile de classer rigoureusement les nombreuses méthodes qui ont été proposées pour le dosage des tanins. On pourrait, sans doute, adopter la classification suivante :

1° Méthodes volumétriques : oxydation directe par le permanganate, le chlorure de chaux, l'iode, etc. ;

2° Méthodes par précipitation ou adsorption : sels métalliques, alcaloïdes, peau fraîche, gélatine, colle de poisson, etc. ;

3° Méthodes combinées : oxydation après précipitation préalable (tannates de zinc, de cuivre, etc.).

Mais nous avons préféré les mentionner par ordre chronologique.

D'ailleurs, la critique de la plupart des techniques proposées pour le dosage des tanins a été faite par différents chimistes, notamment par SISLEY, DRAGENDORFF, SCHLAGDENHAUFFEN, COUNCLER, SCHROEDER, NEUBAUER, PROCTER, FREUDENBERG, NIERENSTEIN.

Les procédés basés sur la précipitation du tanin par les sels métalliques : méthode de PRIBRAM (acétate de plomb), de PERSOZ (chlorure stanneux), de FLECK (acétate cuivrique), de GERLAND (émétique), de GROSSI (hydrate de baryum), ont le défaut de doser, en même temps que les tanins, une partie de non-tanins, tels que l'acide gallique, les matières colorantes et différentes autres substances qui les accompagnent habituellement (1).

L'acétate ferrique (2), *l'acide iodique* (3) présentent les mêmes inconvénients.

Les méthodes basées sur l'adsorption des tanins par la *peau fraîche* (chromée ou non) (4), la *gélatine* (sablée ou non), l'*osséine*, la *caséine* (5), la *soie décreusée* (6), la *corde de violon*, etc., ont été l'objet d'un grand nombre d'expériences. Toutes ont prouvé que l'adsorption des tanins était complète ou presque; mais que les non-tanins, et spécialement l'acide gallique, étaient adsorbés dans une notable proportion. L'insolubilisation de tous ces composés tanniques dépend de la température, de la concentration, du pH des solutions, etc., en un mot, des différents facteurs susceptibles d'influencer les réactions colloïdales.

La méthode à la poudre de peau, adoptée par « l'Association Internationale des Chimistes de l'Industrie

(1) SISLEY. — *Bull. Soc. Chim.*, 1893, 9, 759.

(2) HANDTKE. — *Journ. für Prakt. Chem.*, 81, 345.

(3) COMAILLE. — *C. R. Ac. Sc.*, 1864, 59, 599.

(4) MUNTZ et RAMSPACHER. — *Ann. Chim. et Phys.*, 1875, 86.

(5) NIERENSTEIN. — D'après *Journ. Pharm. Chim.*, 1911, 4, 274.

(6) L. VIGNON. — *C. R. Ac. Sc.*, 1898, 127, 369.

du Cuir » (1) correspond parfaitement à la définition pratique du tanin et satisfait aux besoins de l'industrie; mais elle ne convient pas pour les dosages scientifiques des tanins (2).

La méthode colorimétrique de WILDENSTEIN (3), basée sur l'intensité des taches produites par une solution tannique sur un papier imprégné de « citrate de peroxyde de fer », fournit des résultats encore moins précis (*voir p. 23*).

Le procédé à l'hydroxyde d'aluminium de WISLICENUS (4) a été expérimenté par K. FREUDENBERG (5) et nous traduisons ses conclusions : « Les physiologistes botanistes doivent être persuadés que par la méthode internationale à la poudre de peau chromée, il y a des matières tannantes, telles que les phlobaphènes, qui, étant insolubles dans l'eau, restent dans la plante, et, par suite, indosées. D'autre part, les matières tannantes simples, telles que l'acide gallique, les autres composés phénoliques simples et leurs glucosides, se trouvent complètement ou partiellement avec les non-tanins, qui échappent au dosage. Si l'on désire doser, en même temps que les tanins, ces composés phénoliques simples, la méthode de WISLICENUS, à l'alumine, constituerait pour les phytophysiologistes, mais seulement pour eux, la méthode de choix. »

(1) *Le Cuir Technique*, 1927, 24, 538.

(2) FREUDENBERG. — *Abderhalden*, 1923, 1, 457.

(3) WILDENSTEIN. — *Zeitschr. für Anal. Chem.*, 1874, 13, 243.

(4) WISLICENUS. — *Zeitschr. für Ang. Chem.*, 1904, 17, 801.

(5) FREUDENBERG. — *Abderhalden*, 1923, 1, 457.

Mais il convient de signaler que tous les hydrates d'aluminium du commerce ne possèdent pas le même pouvoir adsorbant et donnent, de ce fait, des résultats divergents. WISLICENUS (1), pour obtenir des résultats comparables et constants, a été obligé de préparer spécialement une très grande quantité d'alumine, afin d'avoir un réactif de grain parfaitement homogène.

Un autre inconvénient de l'hydrate d'aluminium, c'est de précipiter la dextrine, les mucilages, les gommes et les matières pectiques, substances toujours très abondantes dans les extraits tannants.

La méthode de LÖWENTHAL (2) consiste à titrer par le permanganate de potassium, en présence de carmin d'indigo, une solution tannique, avant et après l'élimination des tanins, par la poudre de peau ou la gélatine (3). Elle n'a aucun avantage sur la méthode internationale officielle, car tous les tanins n'ont pas le même pouvoir réducteur vis-à-vis du permanganate, les composés phénoliques simples sont précipités partiellement par la poudre de peau chromée ou la gélatine salée, etc. La critique de cette méthode a été très bien faite par JACOMET (4). Malgré ses nombreux défauts, c'est elle qui est généralement adoptée par les botanistes.

Le *charbon animal* a été proposé par NEUBAUER (5) et nous l'avons expérimenté : 100 cc d'une solution à

(1) WISLICENUS. — *Zeitschr. für Anal. Chem.*, 1905, 44, 96, 626.

(2) LÖWENTHAL. — *Zeitschr. für Anal. Chem.*, 1881, 20, 91.

(3) Cette méthode a été souvent modifiée par différents auteurs et par LÖWENTHAL lui-même.

(4) JACOMET. — *Loc. cit.*, p. 35.

(5) NEUBAUER. — *Zeitschr. für Anal. Chem.*, 1871, 10, 1.

0,4 p. 100 de tanin officinal ont été additionnés de 5 gr. de charbon animal lavé, et le mélange a été abandonné pendant 24 heures. Le filtrat ne renfermait plus de tanin. Mais nous avons constaté que l'acide gallique avait été adsorbé dans une proportion de 70 p. 100.

En effectuant la même expérience avec du charbon animal non lavé et en prolongeant le temps de contact avec le tanin pendant 3 à 4 jours, le filtrat était coloré en vert, ne précipitait pas avec les réactifs des tanins, mais se colorait en bleu par l'alun de fer.

Nous avons observé le même phénomène, en remplaçant le charbon par une poudre végétale de nature cellulosique (tourteaux de graines de mercuriale annuelle, entièrement dégraissés, traités par l'acide chlorhydrique et la soude, soigneusement lavés et séchés).

Il est probable que, dans les deux cas, le tanin s'est trouvé d'abord hydrolysé (partiellement) et que l'acide gallique mis en liberté s'est oxydé et condensé en donnant des produits colorés (acide ellagique).

SISLEY (*l. c.*) a d'ailleurs obtenu les mêmes résultats avec un charbon et un tanin différents.

Le dosage à l'iode proposé par FERDINAND JEAN (1) et modifié par BOUDET (2), consiste à verser une solution titrée d'iode dans une solution tannique additionnée d'empois d'amidon. BOUDET laisse réagir pendant deux heures des quantités mesurées de liqueur tannique et de solution iodée, puis dose l'excès d'iode par

(1) FERD. JEAN. — *Industrie des Cuirs et Peaux*, Masson, édit., Paris, p. 116.

(2) BOUDET. — *Bull. Soc. Chim.*, 1906, (3), 35. 760.

l'hyposulfite. On effectue le même titrage sur la solution débarrassée du tanin par la poudre de peau.

D'après ces indications, 1 gr. d'iode correspond à 1 gr. 137 de tanin pur et sec et à 0 gr. 467 d'acide gallique.

Le procédé iodométrique, comme celui au permanganate, est excellent lorsqu'il s'agit d'une solution aqueuse de tanin officinal. Mais la constitution des tanins étant très différente, il est permis de se demander si les différents tanins fixent les mêmes quantités d'iode (1), et si l'action de l'iode ne se porte que sur les tanins. Il nous semble que les composés phénoliques simples, tels que l'acide gallique, l'hydroquinone, la phloroglucine, l'acide ellagique, la quercétine, etc., fixent même plus d'iode que les tanins eux-mêmes. En outre, la peau ne fixe pas seulement les tanins, mais aussi l'acide gallique, etc.

En 1885, SONNENSCHN (2) avait institué une méthode de dosage basée sur le pouvoir réducteur des tanins et avait établi que 1 gr. de Cu^2O correspond à 0 gr. 4126 de tanin (officinal) et à 0 gr. 4245 de glucose.

Tout dernièrement, ASTRUC et CASTEL (3) ont proposé une méthode de dosage du tanin des vins, basée sur le même principe. Les auteurs se sont efforcés de

(1) Nous avons déterminé le pouvoir réducteur de différents tanins vis-à-vis du permanganate et du bichromate de potassium et nous avons constaté une différence énorme entre le tanin officinal et celui de tormentille, chêne, etc.

(2) SONNENSCHN. — *Dinglers polytechn. Journ.*, 1885, 256, 555

(3) ASTRUC et CASTEL. — *Ann. des Falsif.*, 1932, nos 285-286, 477.

tirer parti de la fonction glucosidique du tanin officinal. Ils dosent, à cet effet, les matières réductrices avant et après défécation et calculent la quantité de tanin en présence, d'après la différence entre les deux dosages.

Le procédé d'ASTRUC et CASTEL présente l'avantage de la rapidité; malheureusement, il ne semble pas susceptible de généralisation, la plupart des tanins n'étant pas de nature glucosidique (v. Constitution).

DOSAGES PAR LES ALCALOÏDES

En 1866, WAGNER (1) dose les tanins à l'aide d'une solution titrée de *sulfate de cinchonine* en employant comme indicateur une solution d'acétate de rosaniline (0,1 p. 1.000). Tous les auteurs qui ont expérimenté cette méthode ont trouvé qu'elle n'était applicable qu'à un petit nombre de cas, car le virage de la rosaniline ne se produit pas à l'instant précis où tout le tanin est précipité par la cinchonine. Bien que l'apparition de la teinte rouge doive marquer la fin de la réaction, il est démontré qu'elle se produit, avec certains tanins, bien avant leur précipitation complète.

HOOPER (2) précipite les tanins au moyen d'une solution saturée de *sulfate de cinchonine*. Les tannates

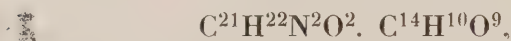
(1) WAGNER. — *Zeitschr. für Anal. Chem.*, 1866, 5, 1.

(2) HOOPER. — *The analyst*, 1925, 589, 162.

sont séchés et pesés; ce qui permet d'en déduire la quantité de tanin combiné.

FEAR (1) constate que la brucine, la caféine, la cinchonine, la cinchonidine, la quinine et la strychnine sont les seuls alcaloïdes donnant des précipités appréciables avec les tanins.

Mais le travail qui nous a paru le plus intéressant est celui de TROTMAN et HACKFORD (2). Les auteurs précipitent le tanin par une solution alcoolique de strychnine et, d'après eux, le tannate obtenu serait *complètement insoluble dans l'eau*. Lavé à l'eau, à l'alcool et à l'éther, puis desséché, le tannate fournit par combustion : C : 63,80, H : 4,80, N : 4,25; ce qui conduit, pour le tannate de strychnine, à la formule suivante :



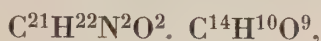
D'après cette formule, le tannate obtenu serait le digallate de strychnine.

Le mode opératoire indiqué par TROTMAN et HACKFORD est le suivant : 0 gr. 125 de tanin officinal sont dissous dans 50 cc d'eau. On soumet la solution à une basse température. On ajoute une solution hydro-alcoolique de strychnine, également refroidie, obtenue en dissolvant 0 gr. 250 de strychnine dans un mélange de 50 cc d'alcool et de 150 cc d'eau. On agite et on filtre sur un creuset de Gooch; on sèche dans le vide et on pèse.

(1) FEAR. — *The analyst*, 1929, 316.

(2) TROTMAN et HACKFORD. — *Journ. Soc. Chem. Industr.*, 1905, 24, 1096.

Le tannate obtenu par eux pesait 0 gr. 2540 au lieu de 0 gr. 2546, ce qui correspond à la formule :



soit une molécule de strychnine pour une molécule d'acide gallo-tannique.

TROTMAN et HACKFORD ont appliqué leur méthode de dosage à des tanins différents et ont obtenu les résultats suivants :

	Tanin % obtenu par la méthode de	
	PROCTER (poudre de peau)	TROTMAN et HACKFORD
Sumac (<i>Rhus coriaria</i>).	25,48	23,56
<i>Pistacia lentiscus</i>	11,30	5,08
<i>Larix europea</i>	8,60	6,64
<i>Betula alba</i>	7,22	5,50
Gambir	59,68	8,40
Cachou	40,10	26,32
Divi-divi (<i>Caesalpinia coriaria</i>).	28,32	23,22
Myrobolans (<i>Terminalia div.</i>)	29,40	18,15
<i>Tamarix</i> (Galles).	52,00	11,63

La méthode au tannate de strychnine présente l'avantage d'utiliser, comme réactif, une base chimiquement pure et de composition connue. Mais, comme l'a fait remarquer A. TURNBULL, certains tanins seulement sont précipités par la strychnine.

Nous compléterons cette dernière critique en faisant observer que le tannate de strychnine, sur lequel les auteurs ont effectué leurs essais et l'analyse élémentaire, a été préalablement lavé à l'eau, à l'alcool et à

l'éther. Par contre, dans les différents dosages qu'ils ont effectués sur les produits naturels, les auteurs n'ont pas lavé les tannates obtenus.

Du reste, comme on peut s'en rendre compte par l'examen du tableau donné par les auteurs, les seuls résultats comparables sont ceux qui concernent le sumac et le divi-divi (tanins pyrogalliques). Par contre, pour le cachou, le pistacia, le tamarix et surtout le gambir, qui sont des tanins catéchiques, les différences sont considérables.

Ayant voulu, nous-même, appliquer cette méthode au cours de ce travail, nous avons obtenu des résultats plus ou moins satisfaisants pour le tanin de noix de galle, de *Geranium pratense*, de valonées, de myrobolans et d'algarobille. Par contre, pour la tormentille, le ratanhia, le marronnier, la fougère mâle, le thé et le vin, les résultats étaient deux à trois fois plus faibles que ceux que nous avons obtenus par le procédé à l'acétate de zinc ammoniacal décrit plus loin.

Application de la méthode de dosage de Trotman et Hackford à différents tanins purs.

Nous avons essayé d'appliquer la méthode de TROTMAN et HACKFORD au dosage des tanins, en raison de ce fait que la strychnine, de même que la cinchonine, permet de précipiter les tanins sans toucher à l'acide gallique et aux matières colorantes végétales.

En suivant strictement le mode opératoire donné par les auteurs, nous avons obtenu les résultats suivants :

Tanin officinal de (en grammes)			
Rhône-Poulenc		Merck	Roessler
0,1925		0,1910	0,1920
0,1920		0,1900	0,1920

Tanins purs de (en grammes)			
Ger. prat.	Ger. sylv.	Chêne	Tormentille
0,1840	0,1835	0,1825	0,1372
0,1842	0,1830	0,1840	0,1300

alors que nous aurions dû obtenir théoriquement 0 gr. 2546 de tannate de strychnine.

Nous avons remarqué que les filtrats se coloraient en bleu foncé (ou en bleu vert dans le cas de la tormentille) au contact de l'alun de fer. Nous avons pensé tout d'abord que cette coloration provenait de l'acide gallique libre, non précipité par la strychnine; mais les tanins de chêne, de géraniums et de tormentille que nous avons préparés ne renfermaient pas d'acide gallique libre.

Nous avons effectué de nouveaux essais sur le tanin officinal (de différentes provenances), que nous avons préalablement desséché dans le vide sulfurique, puis lavé soigneusement avec de l'éther anhydre pour éliminer l'acide gallique libre. Les résultats de nos dosages ont été identiques.

Influence de la température.

Au lieu de nous contenter de refroidir les solutions de tanin et de strychnine dans l'eau courante, nous avons effectué la précipitation et la filtration à la température de la glace fondante. Nous avons obtenu un pourcentage un peu plus élevé, mais sans jamais dépasser 0 gr. 200 (théoriquement 0 gr. 2546). D'autre part, les filtrats se coloraient toujours fortement au contact de l'alun de fer.

Lorsque la précipitation est faite à 35°-45°, on constate qu'elle est moins complète et que le filtrat, primitivement clair, trouble au cours du refroidissement.

Influence du temps de contact.

Différents essais effectués en faisant varier le temps de contact nous ont prouvé que celui-ci n'a aucune influence notable sur le poids du précipité obtenu.

	Tanin (en grammes)	
	Rhône-Poulenc	Tormentille
5 minutes	0,1920	0,1310
15 »	0,1926	0,1305
1 heure.	0,1910	0,1323
4 »	0,1930	0,1340
24 »	0,1920	0,1316

Influence du pH.

D'après I. SMORODINZEV et M^{me} ADOVA (1), l'optimum de précipitation de la gélatine par le tanin

(1) SMORODINZEV et ADOVA. — *Journ. Soc. Chim. Russe*, 1926, 57, 124.

serait au voisinage du PH 4 à 4,5. D'autre part, FREUDENBERG (1) constate que la précipitation des tanins par la gélatine est complète et constante en milieu faiblement acide, tandis qu'elle ne l'est jamais en milieu alcalin, car les précipités tanin-gélatine se forment le plus abondamment vers le point isoélectrique de la gélatine.

Les précipités tanin-alcaloïde et tanin-gélatine étant de même nature (produits d'adsorption ou combinaisons d'addition), nous avons essayé d'acidifier les solutions des différents tanins avec de l'acide sulfurique très dilué (pH 4 à 4,5, hélianthine) et nous avons effectué la précipitation comme précédemment. Les filtrats ne réagissaient plus au contact de l'alun de fer, ce qui semblait indiquer une précipitation totale du tanin. Mais, en ajoutant aux filtrats de l'acétate de sodium cristallisé, puis de l'alun de fer, nous avons vu réapparaître une coloration bleue aussi intense que dans tous les autres cas.

Les résultats furent encore moins élevés pour le tanin de tormentille : 0 gr. 1290, au lieu de 0 gr. 1340 (théoriquement 0 gr. 2546).

Essai de dosage par le sulfate de strychnine.

Nos résultats ne concordant pas avec ceux de TROTMAN et HACKFÖRD et les filtrats renfermant toujours du tanin non précipité, nous avons eu recours au sulfate de strychnine. Nous pensions, en effet, obtenir

(1) FREUDENBERG. — *Abderhalden*, 1923, 1, 440.

de meilleurs résultats, de ce fait qu'au lieu de précipiter 0 gr. 125 de tanin dans un volume de 250 cc, nous pouvions réduire le volume à 70 cc et même à 20-25 cc, tout en conservant une quantité de tanin voisine de 0,125.

Un autre inconvénient de la méthode pondérale de TROTMAN et HACKFORD, est la durée de l'opération. Tout d'abord, la filtration est très lente. La dessiccation exige plusieurs jours, car il est indispensable d'opérer dans le vide sulfurique à la température ordinaire. Si, immédiatement après la filtration et l'essorage, on met le précipité dans l'étuve, celui-ci brunit et se recouvre d'une croûte qui s'oppose à la déshydratation et fausse les résultats.

La précipitation a été faite avec 50 cc de solution renfermant 0 gr. 125 de tanin et 20 cc de solution saturée de sulfate de strychnine. Les filtrats, parfaitement limpides, renfermaient un excès de strychnine et de tanin non précipité, mais jamais d'ion sulfurique libre. Comme on peut s'en rendre compte par les résultats ci-après, la précipitation était incomplète.

Rhône-Poulenc —	Merck —	Géraniums		Chêne —	Tormentielle —
		prat. —	sylv. —		
0,1935	0,1905	0,1845	0,1830	0,1843	0,1380

Des essais effectués avec le sulfate de cinchonine nous ont donné également des précipitations incomplètes.

Influence de la concentration des solutions tanniques.

En précipitant 50 cc de solution à 1 p. 100 de tanin par 20 cc de solution saturée de sulfate de strychnine, nous avons observé que les filtrats renfermaient non seulement un excès de sulfate de strychnine, mais aussi du tanin non précipité. Les tannates obtenus pesaient 0 gr. 832 (au lieu de 1 gr. 184; tanin officinal); le poids de tormentillotannate de strychnine ne dépassait pas 0 gr. 5698.

La concentration semble donc exercer une influence favorable sur la précipitation des tannates de strychnine.

Influence des lavages.

Lorsqu'on opère sur des tanins purs, les lavages ne sont presque pas nécessaires; mais il n'en est pas de même quand il s'agit de doser les tanins dans les extraits tannants et dans les plantes qui renferment, outre les tanins, beaucoup d'autres substances. Les lavages étant indispensables pour éliminer les non-tanins, ainsi que l'excès de réactif, nous avons employé différents liquides pour les réaliser.

1° *Lavage à l'eau.* — Les premières gouttes des eaux de lavages provoquent une opalescence, puis un trouble dans le filtrat préalablement limpide et clair. Le trouble augmente avec le volume d'eau employé.

Nous avons précipité 50 cc de solution tannique à 1 p. 100, par 20 cc de solution saturée de sulfate de strychnine. Le tannate obtenu a été lavé avec des

quantités variables d'eau, ensuite séché et pesé. Le poids de tannate sec a varié comme suit :

Volume d'eau glacée employé	Poids de tannate anhydre (en grammes)	
	obtenu	théorique
10 cm ³	0,8182	1,184
50 cm ³	0,7976	—

Expérience renouvelée en présence de 25 cc d'acide gallique à 0,4 pour 100 :

10 cm ³	0,8196	1,184
50 cm ³	0,7985	—
250 cm ³	0,7420	—

L'eau de lavage a donc une grande influence sur les résultats, car elle décompose et dissout une proportion notable de tannate.

2° *Lavage avec une solution saturée de tannate de strychnine.* — Nous avons songé à utiliser pour les lavages des solutions saturées de tannates de strychnine. Celles-ci ont été préparées avec les précipités de nos dosages précédents et de deux manières :

a) Nous avons agité 1 gr. de tannate anhydre avec 200 cc d'eau, puis nous avons filtré sur un creuset filtrant (1 G/4). Le filtrat était légèrement opalescent, neutre à l'hélianthine; il ne précipitait pas avec le chlorhydrate de benzdine (absence d'ions SO⁴) et, au contact de l'alun de fer, se colorait d'abord en bleu, puis en bleu vert. Le tannate de strychnine resté sur le creuset fut repris encore deux fois par 100 cc d'eau (= 200 cc). Le trouble est allé en s'accroissant avec le volume des eaux de lavage, celui-ci ayant été amené finalement à 550 cc.

A ce moment, le tannate de strychnine resté sur le creuset pesait 0 gr. 7920 (après dessiccation) et 100 cc de filtrat agités, évaporés et desséchés donnaient un résidu de 0 gr. 0370. Les 550 cc d'eau de lavage ont donc dissous (ou plutôt décomposé) 0 gr. 2095 de tannate.

b) Nous avons trituré, dans un mortier, 1 gr. de tannate anhydre avec 600 cc d'eau (12 fois 50 cc). Cette opération nous a permis de retrouver dans les eaux de lavage 0 gr. 2150 et, comme résidu insoluble, 0 gr. 780.

Nous avons remarqué, au cours de ces manipulations, qu'il est impossible d'obtenir une solution saturée de tannate de strychnine et que cette combinaison est beaucoup plus facilement décomposable par l'eau, à l'état frais qu'après dessiccation.

c) *Lavage avec la solution de sulfate de strychnine ayant servi à la précipitation.* — En utilisant pour le lavage la solution de sulfate de strychnine employée pour la précipitation, nous avons obtenu les résultats suivants :

Lavage avec 50 cm ³ de solution de :	T. officinal (en grammes)		Chêne	Tormentille
	Rhône	Merck		
1° Sulfate de strychnine	0,2097	0,2090	0,1810	0,1343
2° Tannate, saturée . .	0,1997	0,1980	0,1723	0,1225

Le lavage avec la solution de strychnine est donc préférable à tous les autres. Mais, pas plus que les précédents, il ne permet d'obtenir des résultats approchant sensiblement des chiffres théoriques.

DOSAGES AU MOYEN DE L'ALDÉHYDE FORMIQUE

FRANKE (1), GLUCKSMANN (2) et d'autres auteurs ont imaginé un procédé de dosage des tanins au moyen de l'aldéhyde formique et de l'acide chlorhydrique à l'ébullition, *mais sans spécifier quels sont les tanins dosables par ce procédé.*

Le procédé de GLUCKSMANN, relaté par DENIGÈS (2), consiste à dissoudre 2 gr. de tanin, dans une capsule, avec la plus petite quantité d'eau possible et à ajouter à cette solution un mélange de 30 cc d'acide chlorhydrique ($D = 1,18$) et de 15 cc de formol à 30 p. 100. On évapore au bain-marie jusqu'à réduction à 15 cc environ; on reprend par 25 cc d'eau chaude et on recueille le tannoforme formé sur un filtre taré; *on lave le précipité à l'eau chaude*, puis on le sèche à l'étuve à 100° jusqu'à poids constant.

101,8 parties de tannoforme correspondent à 100 parties de tanin.

Un des inconvénients de cette méthode réside dans le lavage à l'eau chaude, car nous avons constaté que les tannoformes des tanins pyrogalliques sont complètement solubles dans l'eau bouillante, ainsi que le galloforme. Les tanins pyrogalliques et l'acide

(1) FRANKE. — *Pharm. Zentrbltt.*, 1906, 599.

(2) GLUCKSMANN. — Cité par DENIGÈS: *Précis Chim. Analyt.*, Paris 1931, 2, 205.

gallique ne précipitent jamais complètement. Cependant, les tanins catéchiques précipitent quantitativement et leurs tannoformes ne sont pas solubles, même dans une grande quantité d'eau bouillante.

En définitive, si on ne lave pas les précipités, on dose en bloc les tanins et les composés phénoliques simples, tels que l'acide gallique, l'acide ellagique, etc. Si on lave à l'eau chaude, les résultats obtenus sont d'autant moins forts que l'eau est plus chaude et que les lavages sont plus abondants. D'où une divergence considérable dans les résultats obtenus pour divers tanins, et même pour un seul tanin. Il ne faut donc pas s'étonner si, en suivant les modes opératoires indiqués par les auteurs, il est impossible d'obtenir des résultats constants et comparables.

Déjà en 1897, AWENY (1) attribuait les écarts obtenus à ce fait que le *tanin* devait être un mélange complexe de deux ou plusieurs corps, dont un seulement donnait du tannoforme.

D'après nos recherches, le procédé de dosage par la formaldéhyde et l'acide chlorhydrique ne peut servir qu'au titrage des tanins catéchiques purs. En outre, il peut permettre de déterminer la teneur d'un tanin mixte en tanin catéchique, comme on le verra plus loin.

(1) AWENY. — *Journ. Pharm. Chim.*, 1897, 5, 294.

DOSAGES AU MOYEN DE L'ACÉTATE DE ZINC AMMONIACAL

Le principe de ces méthodes consiste à précipiter le tanin d'une solution à 0,4 p. 100 environ, par un excès de réactif zincique, à froid ou à chaud. Le précipité de tannate de zinc est recueilli, lavé à l'eau froide, chaude ou ammoniacale, puis dissous dans l'acide sulfurique étendu. Le tanin mis en liberté est titré finalement par une solution de permanganate de potassium.

Pour avoir une idée générale sur les différentes modifications apportées à cette méthode, nous avons réuni dans un tableau comparatif les techniques à l'acétate de zinc ammoniacal :

	Précipité à	Lavé à l'eau	Permanganate de K
CARPENI (1875)	chaud	bouillante	N/10, à froid, carmin d'indigo indic. (1)
SISLEY (1893) . .	froid	NH ³ à 3 %	— (2)
MALVEZIN (1912)	chaud	froide	N/10, à 60°-70°, sans indicat. (3)
MICHEL-DURAND (1928)	chaud	bouillante	5 o/oo, à 60°-90°, sans indicat. (4)

(1) CARPENI. — D'après *Monit. Scient.*, QUESNEVILLE, 1875, p. 561.

(2) SISLEY. — *Bull. Soc. Chim.* 1893, (3), 9, 775.

(3) MALVEZIN. — *Bull. Assoc. Chim. sucrerie et distill. de France*, février 1912, p. 539.

(4) MICHEL-DURAND. — *Rev. Génér. Botan.*, 1928-1929, 40 et 41.

Comparaison des différents réactifs proposés.

Réactif de :	ZnO ou $(\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}$	H_2O	NH_3 à 22° Bé
CARPENI-SISLEY.	80 ou 180,70	100	900 cm^3
MALVEZIN . . .	10 ou 22,60	920	80 cm^3
MICHEL-DURAND	27	920	80 cm^3

Essais qualitatifs des divers réactifs.

Nous avons fait agir ces divers réactifs sur les tanins purs de noix de galle, d'écorce de chêne, de tormen-tille, de *Geranium sylvaticum* et de *Geranium pra-tense*, sur les extraits solides de myrobolans (*Terminalia* divers), de valonnières (*Quercus Ægilops*), d'al-garobille (*Caesalpinia brevifolia*), puis, sur les infu-sions de marron d'Inde, de fougère mâle, de ratanhia, de bistorte, de feuilles de thé et sur le vin rouge. Nous les avons également fait agir sur les composés phéno-liqués simples qui accompagnent le plus fréquemment les matières tanniques dans les plantes (acides gallique et ellagique, pyrogallol, phloroglucine, hydroquinone, résorcine); enfin, sur d'autres corps communs dans les extraits végétaux, tels que les acides oxalique, ma-lique, citrique et tartrique, les sucres, la dextrine, la gomme (arabique), l'asparagine, les résines.

Tous les essais ont été effectués sur des solutions à 0,4 p. 100 environ, sauf pour l'acide ellagique et les résines, qui sont peu solubles et dont nous avons pré-paré des solutions saturées et filtrées.

I. — Essais avec des tanins purs.

1° *A froid*, les divers réactifs précipitent plus ou moins complètement les tanins purs. Les liqueurs filtrées, acidifiées légèrement par quelques gouttes d'acide sulfurique étendu, puis additionnées de quelques cristaux d'acétate de sodium cristallisé, se colorent en bleu violacé par addition d'alun de fer; ce qui prouve que les tanins ne sont pas précipités complètement. C'est surtout le réactif de CARPENI-SISLEY qui les précipite très incomplètement (tanin de tormentille, de marronnier, oenotanin, etc.).

2° *A chaud*, les divers réactifs précipitent complètement tous les tanins.

II. — Essais avec les non-tanins.

(Composés phénoliques simples, acides organiques, glucides, etc.)

1° *A froid*, pas de précipité avec les composés essayés. Les solutions d'acide gallique, de pyrogallol, de phloroglucine, de résorcine, d'hydroquinone se colorent plus ou moins, les autres (glucides) ne donnent rien.

2° *A chaud*, sauf dans le cas de l'acide tartrique et de l'acide citrique, les divers réactifs provoquent une précipitation abondante de tous les composés essayés. Les précipités obtenus sont, les uns insolubles dans l'eau froide et peu solubles dans l'eau bouillante (ceux des composés phénoliques), les autres, presque complètement solubles (glucides, acides organiques).

Tous les précipités sont peu solubles dans l'eau ammoniacale, plus solubles dans l'ammoniaque à 20 pour cent, complètement solubles dans l'acide sulfurique étendu. Il s'ensuit que, selon la technique adoptée, telle ou telle catégorie de non-tanins se trouvera précipitée à l'état de combinaison zincique et dosée comme tanin par le permanganate de potassium.

Il faut également remarquer que les divers réactifs à l'acétate de zinc précipitent à chaud. Il suffit de les chauffer à feu nu pendant 5 minutes pour assister à une précipitation plus ou moins abondante d'hydrate de zinc, et même d'oxyde de zinc (parois du tube), due à la volatilisation de l'ammoniaque.

Dans le réactif zincique, un excès d'ammoniaque est nécessaire, d'abord pour maintenir en solution l'hydrate de zinc, puis pour neutraliser l'acidité provenant du suc cellulaire et empêcher la décomposition du réactif au cours de la précipitation des tanins. Si la quantité d'ammoniaque est insuffisante, celle-ci est neutralisée en partie par les acides organiques et même par les tanins et, dans ces conditions, le réactif commence à précipiter de lui-même; l'hydrate de zinc formé touche, à la fois, les tanins, les composés phénoliques simples, les mucilages, les gommes, les résines, etc., de telle sorte que le réactif perd sa spécificité.

De même, une solution neutre d'acétate de zinc précipite non seulement les tanins, mais aussi l'acide gallique, le pyrogallol, etc.

Pour vérifier et confirmer nos essais qualitatifs, nous avons procédé à des essais quantitatifs beaucoup plus démonstratifs (*v. p. 76*),

1^o MÉTHODE DE CARPENI, MODIFIÉE PAR SISLEY

La modification heureuse apportée à la méthode de CARPENI par SISLEY réside dans la précipitation et le lavage du tannate de zinc qui, contrairement aux indications de CARPENI, doivent être faits à *froid*, pour éviter la précipitation simultanée de l'acide gallique et d'autres impuretés (1).

Les essais que nous avons relatés précédemment montrent que la modification de SISLEY était vraiment justifiée et on se demande pourquoi les auteurs qui ont employé, par la suite, la méthode à l'acétate de zinc ammoniacal, n'ont pas tenu compte des expériences très démonstratives de SISLEY.

Mode opératoire (SISLEY).

50 cc de solution tannique contenant environ 3 pour 1.000 de tanin sont additionnés, à *froid*, de 5 cc de réactif zincique. Le précipité formé est filtré sur papier sans plis de bonne qualité. Pour activer la filtration, il est bon de placer l'entonnoir sur une fiole à filtration dans le vide.

Dans le vase où s'est faite la précipitation, on ajoute 50 cc d'acide sulfurique au cinquième pour dissoudre le tannate de zinc adhérent aux parois du vase; on conserve cette eau acidulée, puis on lave le précipité, aussi rapidement que possible, avec de l'eau ammo-

(1) JACOMET. — *Loc. cit.*, 38.

niacale à 3 p. 100, jusqu'à ce que les eaux de lavage passent incolores; ce qui a lieu lorsque tous les non-tanins sont éliminés.

Le lavage (250 cc) ne doit pas durer plus de 10 minutes.

Le tannate de zinc, dissous dans l'acide sulfurique étendu, est dilué à 1 l., additionné de carmin d'indigo, puis titré par la solution décinormale de permanganate de potassium.

Critique. — Il est à remarquer que la filtration et surtout les lavages constituent la partie la plus délicate des diverses techniques. Nous avons constaté qu'avec les tanins purs, la filtration et les lavages s'effectuent très vite. Par contre, dans les solutions extractives végétales, les tanins sont accompagnés de nombreuses substances colloïdales qui prolongent considérablement la filtration. Or, nous savons que les tanins brunissent extrêmement vite en milieu alcalin et que ce brunissement, suivi d'insolubilisation, varie avec la durée de la filtration et la nature du tanin.

La filtration dans le vide ne permet pas d'atténuer notablement cet inconvénient; car, si elle diminue la durée de l'opération, elle n'en favorise pas moins le brunissement et l'insolubilisation du tannate dans l'acide sulfurique étendu (même à chaud). Ces produits bruns insolubles restent alors indosés et diminuent les résultats.

En dosant le tanin officinal pur, nous avons trouvé de 96 à 99 p. 100 de tanin, c'est-à-dire le chiffre théorique. Mais si, à la même solution, on ajoute un peu

d'empois d'amidon, de gomme, de résine, de poudre inerte, en somme une substance colloïdale quelconque, en quantité voisine de celle qu'on peut rencontrer dans les solutions extractives végétales, il devient impossible d'obtenir 80 p. 100 de tanin, même en se servant d'un entonnoir et d'un papier SCHLEICHER à filtration rapide. En utilisant le papier CHARDIN et en opérant dans le vide, ce chiffre ne dépasse jamais 74 à 76 p. 100 de tanin.

Il convient d'ajouter à cela l'adsorption par les filtres, dont nous parlerons plus loin (p. 79).

Il est à remarquer que SISLEY a obtenu de bons résultats en appliquant sa méthode aux tanins des galles de Chine, du Japon, et de Corée, aux feuilles et aux extraits de sumac, aux myrobolans et aux divers tanins commerciaux de la noix de galle d'Alep.

Or, tous ces tanins sont des tanins pyrogalliques, avec lesquels le réactif zincique fournit des résultats satisfaisants. Nous avons pu, nous-même, nous en rendre compte en l'appliquant aux tanins à prédominance pyrogallique, tels que ceux de *Geranium pratense*, d'algarobille et des valonnées. Par contre, en employant cette méthode pour doser les tanins catéchiques purs, tels que ceux de tormentille, ratanhia, marronnier, fougère mâle, oenotanin, etc., nous avons constaté que la précipitation est incomplète et les résultats très faibles (30 à 50 p. 100 de perte par suite de précipitation insuffisante, d'adsorption, de brunissement et d'insolubilisation).

2^o MÉTHODE DE CARPENI, MODIFIÉE PAR MALVEZIN
ET PAR MICHEL-DURAND

Comme on peut s'en rendre compte par l'examen du tableau comparatif des différentes techniques à l'acétate de zinc ammoniacal (*p.* 68), la modification apportée par MALVEZIN et MICHEL-DURAND, à la méthode de CARPENI consiste à utiliser un réactif moins concentré (9 fois environ) et moins ammoniacal (11 fois), et à titrer à chaud, directement, par le permanganate de potassium. CARPENI et MICHEL-DURAND lavent abondamment à l'eau bouillante; par contre, MALVEZIN lave « avec un peu d'eau distillée ».

Mais l'inconvénient de ces trois méthodes réside dans la précipitation du tannate de zinc à *chaud* (5 minutes d'ébullition).

Nous nous sommes occupé surtout de la méthode de MICHEL-DURAND, qui est la plus récente et certainement la plus scientifique. Voici, du reste, le mode opératoire proposé par l'auteur : « 50 cc d'extrait tannique sont additionnés d'un égal volume de liqueur zincique. Le tannate de zinc précipite; on porte à l'ébullition pendant cinq minutes, on ajoute 500 cc d'eau distillée, on porte à 100°; au bout de quelques minutes, la plus grande partie du tannate de zinc se dépose. On décante sur un filtre; trois lavages successifs suffisent en général pour éliminer l'excès de réactif et obtenir un filtrat incolore. »

Le tannate de zinc est dissous dans l'acide sulfurique étendu et dosé par le permanganate, après avoir

porté la solution sulfurique à une température voisine de 60 à 90°. On verse alors le permanganate, par cinq gouttes, jusqu'à la production d'une teinte brune. « En précipitant à froid, on évite la formation du gallate de zinc et des composés analogues; c'est pour éliminer cette cause d'erreur que j'ai fait précéder le traitement zincique d'un lavage à l'éther de l'extrait aqueux, lorsque l'acide gallique ou les phénols analogues sont assez abondants. »

Critique des différentes techniques à l'acétate de zinc.

1° *Essais quantitatifs avec des tanins purs.* — Des dosages ont été effectués sur des solutions contenant environ 0,4 p. 100 de tanin.

Avec le tanin officinal pur, la méthode de MALVEZIN (lavage avec un peu d'eau distillée) fournit des résultats plus satisfaisants que celle de SISLEY. Par les lavages à l'eau bouillante utilisés dans la méthode de CARPENI et dans celle de MICHEL-DURAND, on enlève jusqu'à 30 p. 100 de tanin.

Les mêmes dosages, effectués sur les tanins purs des *Geranium (pratense et sylvaticum)* et de l'écorce de chêne, donnent sensiblement les mêmes écarts par les méthodes de CARPENI et de MICHEL-DURAND. Pour le tanin de tormentille, cet écart atteint jusqu'à 38 p. 100. Ce déficit est facile à expliquer, car nous avons constaté, au cours de nos essais qualitatifs et quantitatifs, qu'il n'y a pas un seul tannate métallique qui ne soit

dissociable; plus l'eau de lavage est chaude, plus grande est la proportion de tannate décomposé. Evidemment, si on ne lave pas les précipités de tannates de zinc, toutes les techniques fournissent des résultats très satisfaisants.

2° *Essais quantitatifs avec des non-tanins.* — En précipitant à chaud, avec l'acétate de zinc ammoniacal, des solutions ne contenant que de l'acide gallique pur, on s'expose à titrer ce principe comme tanin. C'est ainsi qu'en traitant une solution d'acide gallique à 0,4 p. 100 par la méthode de MALVEZIN, nous avons obtenu un résultat correspondant à 0 gr. 35 de tanin. Cette même liqueur traitée par la méthode de CARPENI nous en a donné 0 gr. 24; enfin, la technique de MICHEL-DURAND nous a fourni 0 gr. 21. Ces résultats confirment ceux que SISLEY a obtenus en 1893 (1) dans les mêmes conditions.

3° *Essais quantitatifs avec des solutions mixtes (tanin et acide gallique).* — En effectuant les mêmes essais sur une solution contenant 0 gr. 20 de tanin et 0 gr. 20 d'acide gallique p. 100, nous avons trouvé, comme résultats, 0 gr. 38 de tanin par la technique de MALVEZIN, 0 gr. 33 par celle de CARPENI et 0 gr. 29 par celle de MICHEL-DURAND, dans une liqueur ne contenant, en réalité, que 0 gr. 20 de tanin.

4° *Lavage préalable des extraits tanniques avec de l'éther.* — Une des différences existant entre la mé-

(1) SISLEY. — *Bull. Soc. Chim.*, 1893, 9, 771.

thode de MICHEL-DURAND et celle de CARPENI réside dans ce fait que le traitement zincique est précédé d'un lavage à l'éther, de l'extrait aqueux, lorsque l'acide gallique et les polyphénols sont assez abondants (1).

Ce lavage à l'éther n'est pas sans présenter de nombreux inconvénients, ainsi que nous l'avons constaté en effectuant l'expérience suivante : 100 cc d'une solution renfermant 1 gr. de tanin à l'éther (*Rhône-Poulenc*) et 0 gr. 50 d'acide gallique pur (*Merck*) ont été lavés, dans une ampoule à décantation, avec de petites quantités d'éther (15 à 20 cc) jusqu'à ce que le dissolvant évaporé n'abandonne plus de cristaux d'acide gallique. A ce moment :

1° La solution aqueuse (lavée à l'éther) évaporée et desséchée n'abandonne que 0 gr. 720 de résidu, au lieu de 1 gr. ;

2° La solution éthérée, évaporée et desséchée laisse 0 gr. 772 de résidu au lieu de 0 gr. 500.

La même expérience, faite sur le tanin de *Merck*, est encore plus démonstrative.

Le lavage à l'éther est donc défectueux, puisqu'il enlève non seulement l'acide gallique, mais aussi une forte proportion du tanin de noix de galle (27 p. 100). Nous avons eu l'occasion de faire les mêmes constatations au cours de la préparation des tanins purs (v. p. 88 et 89).

D'ailleurs, le lavage à l'éther ne s'impose pas, car aucun des réactifs zinciques ne précipite à froid ni les

(1) MICHEL-DURAND. — *Revue génér. Botan.*, 1928-1929, 40-41.

composés phénoliques simples (acide gallique, acide ellagique, phloroglucine, etc.), ni les matières colorantes flavoniques (quercétine), ni les anthocyanes (vin rouge, betterave). Par contre, tous ces composés sont précipités, presque quantitativement, lorsqu'on opère à *chaud* (v. p. 70).

5° *Phénomènes d'adsorption.* — Pour nous rendre compte de l'influence des phénomènes d'adsorption au cours de l'analyse des tanins, nous avons préparé plusieurs solutions titrées contenant chacune 0 gr. 360 pour cent de tanin d'écorce de chêne. Chacune de ces solutions a été additionnée de 2 gr. p. 100 des substances suivantes : noir animal, kaolin, papier filtre, tourteaux de graines de mercuriale (dégraissés, lavés à l'acide chlorhydrique, à la soude et à l'eau), poudre composée d'amidon (1,80), de gomme arabique (0,10) et d'agar-agar (0,10). Après 24 heures de contact, en agitant de temps en temps, les mélanges ont été filtrés sur papier sans plis.

Les filtrats qui avaient été au contact du charbon animal, du papier-filtre et des tourteaux de mercuriale ne renfermaient plus de tanin. Le kaolin avait adsorbé 8 p. 100 de tanin et le mélange (amidon...) 15 p. 100.

Une notable quantité de tanin étant toujours adsorbée par le papier-filtre (plus longue est la filtration et plus grande est la quantité de tanin adsorbée), nous avons procédé à des essais de filtration sur creusets-filtres Jena (Schotte 1 G 1 et 2).

Les résultats furent très satisfaisants avec les tanins purs, mais dans le cas de solutions extractives végétales,

riches en matières colloïdales, il se montrèrent presque aussi défavorables qu'avec le papier-filtre. Les dosages ont donné 0 gr. 315 au lieu de 0,36, c'est-à-dire une perte de 12 p. 100 de tanin. Dans le cas des tanins purs, nous avons trouvé les chiffres presque théoriques : 98 à 99 p. 100 de tanin.

6° *Titration par le permanganate de potassium.* — MALVEZIN et MICHEL-DURAND effectuent le titrage à chaud (60° à 90°) en versant, 5 gouttes par 5 gouttes, la solution de permanganate, jusqu'à production d'une teinte rosée persistant au moins 3 minutes (MALVEZIN) ou jusqu'à coloration brune (MICHEL-DURAND). La durée de l'opération dépend de la quantité et de la nature du tanin en présence. D'autre part, le titrage étant long et la liqueur se refroidissant plus ou moins au cours de l'opération, il est parfois très difficile de percevoir la fin de la réaction. En outre, il est à remarquer que tous les tanins n'ont pas le même pouvoir réducteur vis-à-vis du permanganate et que, par conséquent, le facteur de réduction du permanganate à l'égard du tanin de la noix de galle ne peut permettre un dosage exact des tanins de marronnier, châtaignier, chêne, canaigre, tormentille, etc.

D'autre part, nous avons remarqué que le pouvoir réducteur des tanins et des composés phénoliques simples, vis-à-vis du permanganate, n'est pas toujours en rapport avec leur teneur en oxygène. C'est ainsi que l'acide gallique, qui contient 47 p. 100 d'oxygène, réduit davantage le permanganate que l'acide gallo-tannique qui n'en contient que 44 p. 100. SISLEY a

obtenu les mêmes résultats (1). GUNTHER (2) a trouvé que l'acide tormentillotannique et l'acide ratanhia-tannique réduisent moins de permanganate que l'acide gallotannique, et cependant l'acide tormentillotannique ne contient que 33 à 35 p. 100 d'oxygène.

C'est pour ces diverses raisons que nous avons abandonné le permanganate et porté notre choix sur le mélange argento-sulfo-chromique. Ce dernier nous ayant fourni des résultats presque théoriques avec des corps de constitution nettement définie, nous avons isolé les tanins d'un certain nombre de plantes fraîches et avons déterminé le pouvoir réducteur de chacun d'eux.

EN RÉSUMÉ, l'exposé et les critiques qui précèdent permettent de tirer les conclusions suivantes :

1° La *strychnine*, la *cinchonine* et leurs sels ne peuvent être utilisés, parce que la précipitation des tanins n'est jamais complète;

2° Les techniques basées sur la précipitation des tanins au moyen de *formaldéhyde* et d'acide chlorhydrique ne donnent pas non plus des résultats certains et constants. D'une part, tous les tanins ne sont pas précipités quantitativement et, d'autre part, divers tannoformes (pyrogalliques) sont solubles dans l'eau bouillante. Il en découle des résultats variables selon le mode opératoire suivi;

3° Les diverses techniques de titrage par l'acétate de zinc ammoniacal ne peuvent, elles non plus, fournir

(1) SISLEY. — *Bull. Soc. Chim.*, 1893, 9, 763.

(2) DRAGENDORFF. — *Analyse chimique des végétaux*, traduction française par SCHLAGDENHAUFFEN, Paris, 1885, p. 35.

des résultats exacts. En effet, les unes précipitent incomplètement les tanins, les autres précipitent une certaine proportion de non-tanins. Ajoutons à ces inconvénients ceux qui résultent du titrage, les auteurs attribuant, en effet, le même pouvoir réducteur vis-à-vis du permanganate à des tanins de nature très différente.

C'est pourquoi nous nous sommes efforcé de trouver une technique permettant de ne précipiter que les tanins et de les titrer ensuite rigoureusement.

CHAPITRE III

DOSAGE DES TANINS par le mélange argento-sulfo-chromique.

Le bichromate de potassium, en solution sulfurique, désigné communément sous le nom de *mélange chromique*, a été utilisé, dans des conditions nettement définies, pour le dosage de diverses substances organiques complètement oxydables.

Nous avons essayé de l'appliquer au dosage volumétrique des tanins. Mais, avant de faire connaître le principe et le mode d'application de cette méthode, il nous faut exposer sommairement la technique que nous avons suivie pour l'épuisement des organes végétaux et l'isolement des tanins.

A. — EPUISEMENT DES ORGANES VEGETAUX EN VUE DE L'EXTRACTION ET DU DOSAGE DES TANINS

Etant donné les inconvénients des différents modes d'extraction (p. 38), nous avons adopté la technique suivante :

1° *Epuisement des organes, à froid, avec de l'eau aëstillée acidulée* (liquide d'épuisement à froid).

Les organes frais sont divisés en fragments, à l'aide d'un couteau à lame inoxydable. Ils sont introduits, immédiatement, dans un petit percolateur en verre et recouverts d'eau distillée bouillie, contenant 1 gr. 50 à 2 gr. p. 1.000 d'acide sulfurique ou d'acide oxalique. On ajoute 1 cc de toluène (1) et on laisse en contact, dans un endroit frais, pendant 24 heures (ou 48 heures, s'il s'agit d'organes lignifiés). On fait alors écouler le liquide.

Lorsque les organes sont bien égouttés, on les introduit dans un mortier en verre et on les broie finement, en présence de sable lavé. Le produit pulvérulent est remis dans le lixiviateur, avec le liquide ayant servi à l'imbibition préalable. On rince soigneusement le mortier avec un peu d'eau acidulée que l'on ajoute au contenu du percolateur.

On laisse écouler le liquide et on procède à la lixiviation de la poudre, avec de l'eau acidulée, jusqu'à obtention d'un volume de colature égal à 10 fois le poids de substance mise en œuvre. On continue alors la percolation avec de l'eau distillée pure, afin d'éliminer les traces d'acide contenues dans le marc, et on réunit les deux colaturés. On emploie, au total, 15 parties de véhicule pour une de matière.

2° *Épuisement du marc avec de l'eau distillée chaude* (liquide d'épuisement du marc).

(1) L'addition de toluène a pour but d'empêcher le développement des micro-organismes au cours de l'épuisement des organes.

La lixiviation à l'eau acidulée froide ne permettant pas d'extraire la totalité des tanins (1), il est nécessaire de procéder, consécutivement, à un épuisement à l'eau chaude. A cet effet, le marc resté dans le percolateur est versé dans une capsule et délayé dans un certain volume d'eau chaude. On porte à la température du bain-marie bouillant pendant 10 minutes, puis on décante le liquide chaud sur une toile de lin, disposée au-dessus d'un Bécher. On renouvelle cette opération jusqu'à ce que le liquide extractif, additionné d'alun de fer, ne donne plus de coloration, ce qui exige généralement 20 parties de véhicule pour une de substance.

Dans la digestion, de même que dans la lixiviation, il convient d'employer des quantités modérées de dissolvant. En effet, lorsqu'il s'agit du titrage, les solutions doivent renfermer 0 gr. 30 à 0 gr. 40 p. 100 de tanin. Lorsqu'elles sont trop diluées, il devient nécessaire de les concentrer, ce qui entraîne une perte plus ou moins notable en principes actifs (2).

Les solutions extractives obtenues à froid sont mélangées à celles qui proviennent de l'épuisement du marc. Mais, alors que les premières sont parfaitement limpides et ne précipitent pas à la longue, les secondes sont louches, troublent et parfois précipitent par re-

(1) Une certaine quantité de tanin semble être adsorbée par la cellulose et par certaines substances glucidiques.

(2) Pour les plantes étudiées dans ce mémoire (chêne, géraniums, tormentille), qui renferment plus de 10 gr. de tanin p. 100, nous avons épuisé 100 gr. d'organes frais par un volume total de 3 lit. 5 à 4 litres de dissolvant.

froidissement. Il s'ensuit qu'il peut être nécessaire de les clarifier. Dans ce cas, il faut recourir à la centrifugation, la filtration étant susceptible de provoquer une perte de tanin.

L'extraction et le dosage du tanin en partant des plantes sèches n'est pas recommandable, mais s'impose néanmoins dans certains cas. Pour l'effectuer, il suffit de diviser les organes en fragments grossiers et de les immerger dans l'eau acidulée pendant 48 heures. On procède ensuite à leur pulvérisation et à leur épuisement, dans les conditions indiquées précédemment.

Dans la plupart des essais qui sont mentionnés par la suite, nous avons opéré de la façon suivante :

1° Nous avons déterminé la teneur en eau des organes frais;

2° Nous avons amené les liquides extractifs à un volume égal à 40 fois le poids de substance mise en œuvre;

3° Nous avons obtenu la proportion des matières solubles totales en évaporant, au bain-marie, 50 cc de solution extractive, puis en desséchant le résidu à 105° jusqu'à poids constant;

4° Nous avons prélevé 100 cc de liquide pour le dosage du tanin et consacré le reste à son isolement à l'état pur;

5° Dans certains cas, pour mieux suivre l'extraction des matières tanniques dans les organes, nous avons dosé séparément le tanin dans le liquide d'épuisement à froid et dans le liquide d'épuisement du marc.

B. — ISOLEMENT DES TANINS A L'ETAT PUR

Pour éviter les altérations des tanins que nous avons observées en appliquant la méthode de Freudenberg (*v. p. 46*), nous avons adopté la technique suivante :

La solution tannique (*p. précédente*) est précipitée par l'acétate neutre de plomb (réactif de Courtonne). On filtre sur une essoreuse. On recouvre le tannate de plomb isolé d'une mince couche de toluène (1), puis on le délaie dans un mortier avec de l'eau distillée, bouillie et refroidie à l'abri de l'air, jusqu'à obtention d'une bouillie homogène et suffisamment liquide. Celle-ci est soumise alors à un courant régulier et lent d'hydrogène sulfuré; on brasse de temps en temps la masse, afin de faciliter la décomposition du tannate de plomb.

Lorsque le tannate est entièrement transformé (le précipité est noir), on jette sur filtre plissé et on lave le sulfure de plomb avec un peu d'eau saturée d'hydrogène sulfuré, pour entraîner le tanin adsorbé par le précipité et le papier et pour décomposer le peu de tannate de plomb qui a pu ne pas être transformé par l'hydrogène sulfuré.

Le liquide est débarrassé de l'excès d'hydrogène sulfuré par distillation dans le vide à basse tempéra-

(1) Le toluène est destiné à empêcher le développement des microorganismes au cours de l'opération et le brunissement du tannate de plomb.

ture. Puis on le précipite de nouveau par l'acétate neutre de plomb, mais cette fois en conservant seulement les fractions moyennes. On filtre et on décompose le tannate de plomb par l'hydrogène sulfuré. La liqueur provenant de cette deuxième décomposition est distillée dans le vide, à une température inférieure à 40°, afin de chasser l'hydrogène sulfuré et l'acide acétique.

Il est nécessaire d'éliminer complètement l'acide acétique, car il provoquerait l'hydrolyse des tanins pyrogalliques et le rougissement et l'insolubilisation des tanins catéchiques. Cette élimination est obtenue en ajoutant de l'alcool au liquide, à plusieurs reprises, au cours de la distillation. Les dernières traces sont enlevées par des lavages avec de l'éther.

La solution tannique est concentrée dans le vide jusqu'à consistance sirupeuse, puis agitée plusieurs fois avec de l'éther éthylique pour éliminer les composés phénoliques simples, notamment l'acide gallique, la quercétine et l'acide ellagique, ainsi que le reste d'acide acétique. L'éther s'empare aussi d'une certaine quantité de tanins, surtout pyrogalliques, car les lavages doivent être poussés jusqu'à obtention d'un résidu dépourvu de cristaux.

Cette purification est largement suffisante pour les tanins pyrogalliques (noix de galle). Mais pour les tanins de tormentille et de chêne, il est nécessaire d'opérer de la façon suivante : la solution tannique obtenue est lavée à l'éther, puis évaporée à la température ordinaire, sous un vide très poussé (1 mm) et en présence d'acide sulfurique concentré. Le résidu est dissous dans

la quantité strictement nécessaire d'alcool, et la solution alcoolique obtenue est précipitée par addition d'une grande quantité d'éther éthylique (jusqu'à ce que l'éther ne provoque plus de précipitation). On décante, filtre et lave le précipité de tanin pur avec de l'éther. Après évaporation de ce solvant, on dissout le tanin dans un peu d'eau distillée et on dessèche dans le vide sulfurique (1).

Les tanins ainsi purifiés ont presque les mêmes propriétés physiques et chimiques (solubilité, produits de dégradation, réactions de différenciation, etc.) que les tanins de la première catégorie, qui ont été simplement lavés à l'éther. Mais, dans le cas d'un tanin mixte (chêne, géraniums), on constate que les fractions les plus purifiées sont les plus riches en tanin catéchique (*v. p.* 108 et 109).

Toutes ces opérations, destinées à la purification des tanins, doivent être faites avec la plus grande rapidité et à la température la plus basse possible.

(1) Il est très difficile d'éliminer les solvants organiques, surtout l'éther acétique. Pour y arriver, il faut reprendre le résidu, à plusieurs reprises, par l'eau et évaporer dans le vide. C'est probablement pour cette raison que la plupart des tanins commerciaux présentent une odeur très nette d'alcool, d'éther acétique, etc.

C. — DOSAGE DES MATIÈRES ORGANIQUES
PAR LE MÉLANGE ARGENTO-SULFO-CHROMIQUE
APPLICATION AUX TANINS

En 1920, H. CORDEBARD (1) a montré qu'il était possible de doser et de vérifier la pureté de nombreuses substances organiques, en les oxydant par le mélange chromique et en déterminant, volumétriquement, la quantité de bichromate de potassium réduit. La méthode est rigoureusement applicable aux substances organiques complètement oxydables en donnant exclusivement CO^2 , H^2O , NH^3 . Certains produits donnant naissance, dans les mêmes conditions, à de l'acide acétique, lui avaient fourni, à cette époque, des résultats moins précis.

En 1922, L.-J. SIMON (2) a signalé que le chromate d'argent permettait de réaliser l'oxydation complète de l'acide acétique en CO^2 et H^2O .

CORDEBARD et MICHL (3), en 1927, ont démontré qu'on pouvait ajouter, sans inconvénient, du nitrate d'argent au mélange sulfo-chromique en vue d'obtenir la combustion complète de l'acide acétique et des nombreux corps lui donnant naissance, tout en permettant le dosage volumétrique de la substance oxydée.

La constitution des tanins étant encore imparfaitement connue et les résultats obtenus étant plus cons-

(1) CORDEBARD. — *Ann. Chim. Anal.*, 1921, (2), 3, 49.

(2) L.-J. SIMON. — *C. R. Ac. Sc.*, 1922, 174, 1706.

(3) CORDEBARD et MICHL. — *Bull. Soc. Chim.*, 1927, (4), 43, 97.

tants avec le mélange argento-sulfo-chromique qu'avec le mélange chromique, nous nous sommes servi, au cours de tous nos dosages, du mélange argento-sulfo-chromique.

Le principe de la méthode est le suivant : un poids défini de substance à oxyder est traité, pendant quelques minutes et à la température d'ébullition du mélange (139° - 141°), par une quantité déterminée de solution argento-sulfo-chromique. On évalue l'excès de bichromate à l'aide d'une solution décimale de sulfate ferreux, en se servant de ferricyanure de potassium comme indicateur externe.

La solution *normale* de bichromate de potassium est obtenue en dissolvant 49 gr. 03 de ce sel cristallisé et pur dans un litre d'eau distillée; elle est susceptible de céder un demi-atome d'oxygène lors de sa réduction.

La solution *décimale* de sulfate ferreux est obtenue de la façon suivante : dans un matras de 1 litre on introduit 500 cc d'eau distillée bouillie et refroidie à l'abri de l'air, 200 cc d'acide sulfurique au cinquième (en volume) et une pincée de bicarbonate de sodium. Après décomposition complète du bicarbonate, on ajoute 39 gr. 20 de sulfate de fer (II) et d'ammonium (sel de Mohr) $(\text{SO}^4)^2\text{Fe}(\text{NH}^4)^2,6\text{H}_2\text{O}$. On bouche le matras et on fait dissoudre le sel de Mohr en agitant de temps en temps. Lorsque la dissolution est achevée, on complète à 1.000 cc avec de l'eau distillée bouillie et refroidie à l'abri de l'air (1).

(1) DENIGÈS. — *Précis de Chim. Anal.*, Maloine, édit., 1930, 1, 637.

Dans tous les essais mentionnés dans ce travail, nous avons effectué l'oxydation à l'aide d'un réactif argento-sulfo-chromique obtenu, extemporanément, de la façon suivante :

1 volume de solution normale de bichromate de potassium ;

1 volume d'acide sulfurique concentré, pur, exempt de matières organiques ;

Une quantité de nitrate d'argent cristallisé susceptible de fournir une proportion de bichromate d'argent plus que suffisante pour l'oxydation complète de l'acide acétique pouvant se former (0 gr. 300 p. 10 cc de solution normale de bichromate).

L'oxydation a été effectuée à la température d'ébullition du mélange (vers 140°), dans un ballon en verre Pyrex à fond plat, de 300 cc de capacité, dont le col, large et rodé, s'adapte très exactement à un réfrigérant vertical en verre Pyrex, possédant 5 boules et mesurant 60 cm de longueur. Les dosages des substances solubles dans l'eau ont été effectués sur 10 cc (1) de solution à 0,4 p. 100 ; les corps insolubles dans l'eau (tannoformes, rouges tanniques, tannates des alcaloïdes) ont été pesés, très exactement, en quantité voisine de 40 milligr. (2) et introduits dans le mélange

(1) 10 cc. de solution à doser + 10 cc. de bichromate + 20 cc. d'acide sulfurique pur, car l'oxydation doit s'effectuer dans un mélange contenant, au moins, 50 p. 100 d'acide sulfurique (en volume).

(2) Dans certains cas, nous avons pesé 100 mgr., mais, au lieu de 10 cc. de bichromate normal, nous avons utilisé 30 cc. d'acide sulfurique pur et 0 gr. 900 de nitrate d'argent cristallisé).

chromique tiède. Dans les deux cas, les résultats ont été calculés pour la substance anhydre. La durée de l'oxydation indiquée dans les essais représente le temps d'ébullition du mélange (en général 10 minutes, sauf pour les tannates des alcaloïdes).

La détermination de l'excès d'acide chromique est effectuée au moyen de la solution N/10 de sulfate ferreux, de la façon suivante : le contenu du ballon est refroidi dans un courant d'eau et transvasé dans un matras jaugé de 100 cc; puis le récipient est lavé avec de l'eau distillée, à plusieurs reprises, pour que le transvasement soit quantitatif. Cette solution diluée est alors refroidie dans un courant d'eau et complétée à 100 cc avec de l'eau distillée. Elle doit présenter une teinte jaune-verdâtre, à reflets rougeâtres par transparence (excès d'acide chromique).

10 cc de cette dilution à 10 p. 100 sont introduits dans un erlen, additionnés de 50 à 70 cc d'eau distillée et de quelques cristaux de chlorure de sodium. L'addition de chlorure de sodium est destinée à précipiter l'excès d'argent et à éviter la formation de ferri-cyanure d'argent, dont la coloration orangée nuirait à la sensibilité du virage. On verse alors dans le mélange la solution N/10 de sulfate ferreux jusqu'à apparition d'une teinte vert-bleu très franche, qui indique que le terme de la réaction approche.

A partir de ce moment, on termine l'opération à la *touche*. A cet effet, on dépose, sur une plaque de porcelaine, quelques gouttelettes d'une solution récente de ferri-cyanure de potassium à 1 p. 100. On continue

alors à faire tomber, goutte à goutte, la solution de sulfate ferreux. Après chaque addition, on prélève une goutte de liquide à l'aide d'un agitateur en verre et on la transporte sur une des gouttelettes de ferricyanure. Dès qu'il y a une trace de sulfate ferreux en excès, le mélange des deux gouttes prend une teinte bleue immédiate, due à la formation de ferricyanure ferreux. C'est le terme de la réaction.

Ex. : Solution de tanin officinal — 4 cc 48 de sulfate ferreux. 10 — 4,48 = 5 cc 52 de la solution normale de bichromate de potassium ont été réduits par 10 cc d'une solution de tanin officinal à 0,36 p. 100 (résidu d'évaporation).

$$\frac{0,036}{5,52} = 0,00652 \text{ (f)}$$

Ce nombre (0,00652) constitue le facteur par lequel il faut multiplier le nombre de centimètres cubes de bichromate réduit.

Si 10 cc d'une solution de titre inconnu du même tanin réduisent 6 cc 10 de bichromate, on en conclura que la proportion contenue dans la prise d'essai est égale à : $6,10 \times 0,00652 = 0 \text{ gr. } 0398$, soit 0,398 pour cent.

Le tableau ci-joint (p. 96) relate les essais d'oxydation effectués sur diverses substances existant communément dans les plantes à tanin, ayant une constitution chimique bien établie, oxydables par le mélange chromique.

Nous avons essayé également de doser un certain nombre de tanins purs que nous avons isolés.

Le tableau indique : 1° le nom du produit; 2° sa formule brute; 3° son poids moléculaire; 4° et 5° la quantité d'oxygène empruntée au mélange chromique (nombre d'atomes d'O et nombre de litres de bichromate normal correspondant); 6° le poids de produit théoriquement nécessaire à la réduction de 1 cc de solution N de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$. Il est donné par le quotient suivant :

Poids moléculaire en grammes

Nombre de centimètres cubes de solution N de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ théoriquement nécessaires à l'oxydation de la molécule-gramme;

7° Le nombre de centimètres cubes de solution N de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ théoriquement réduits par 0 gr. 10 de produit. Ce chiffre est donné par le quotient suivant :

Nombre de centimètres cubes de solution N de
 $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ théoriquement nécessaires à l'oxydation
de la molécule

Poids moléculaire en décigrammes.

8° Le nombre de centimètres cubes de solution N de $\text{Cr}^2\text{O}^7\text{K}^2$ expérimentalement réduits par 0 gr. 10 du produit. Les chiffres indiqués représentent la moyenne d'environ trois à quatre essais portant sur un produit pur.

La durée d'ébullition était de 10 minutes.

PRODUIT	FORMULE brute	POIDS molé- culaires	QUANTITÉ d'oxygène nécessaire à l'oxydation exprimée en			NOMBRE de cm ³ de sol. N de Cr ² O ⁷ K ² réduits par 0,10 de produit	
			Atomes	Litres de sol. N de Cr ² O ⁷ K ²	1 cm ³ de sol N de Cr ² O ⁷ K ² corres- pond à (f)	Théo- rique- ment	Expéri- menta- lement
Acide tartrique	C ⁴ H ⁶ O ⁶	150	5	10	0,015	6,67	6,60
— citrique	C ⁶ H ¹⁰ O ⁸	210	9	18	0,01167	8,57	8,54
— oxalique	C ² H ² O ⁴	90	1	2	0,045	2,22	2,20
— malique	C ⁴ H ⁶ O ⁵	134	6	12	0,0117	8,95	8,90
— gallique	C ⁷ H ⁶ O ⁵	170	12	24	0,00708	14,12	14,05
— ellagique	C ¹⁴ H ⁶ O ⁸	302	23	46	0,00656	15,23	15,20
Résorcine	C ⁶ H ⁶ O ²	110	13	26	0,00423	23,64	23,59
Hydroquinone	C ⁶ H ⁶ O ²	110	13	26	0,00423	23,64	23,60
Pyrogallol	C ⁶ H ⁶ O ³	126	12	24	0,00525	19,05	19
Phloroglucine	C ⁶ H ⁶ O ³	126	12	24	0,00525	19,05	19
Quercétine	C ¹⁵ H ¹⁰ O ⁷	302	28	56	0,0054	18,53	18,48
Quercitrin	C ²¹ H ²² O ¹²	466	41	82	0,00568	17,60	17,65
Tanin Merck (1) . . .	C ⁷⁶ H ⁵² O ¹⁶ (?)	1700	132	264	0,00644	15,53	15,30
— Rhône-Poulenc (2) .	—	—	—	—	0,00665	—	15,05
— Normand-Voituriez .	—	—	—	—	0,0066	—	15,15
— Rössler	—	—	—	—	0,00652	—	15,35
— Mulhouse	—	—	—	—	0,0066	—	15,15
Tanin à l'eau	—	—	—	—	0,00676	—	14,80
— à l'alcool	—	—	—	—	0,0067	—	14,95
— de Tormentielle(3)	C ²⁶ H ²² O ¹⁴ (?)	510	52	102	0,0050	20,00	20,20
— Chêne(écorce)(4)	C ¹⁷ H ¹⁶ O ⁹ (?)	364	33	66	0,00552	18,13	17,35
— geranium pratense . .	—	—	—	—	0,00684	—	14,63
— — sylvaticum	—	—	—	—	0,00633	—	15,80

(1) *Acidum tannicum pro analysi*, C⁶H⁷O⁶ (C¹⁴H⁹O⁸)⁵, pentadigalloylglucose.

(2) Tanin à l'alcool, pour analyse.

(3) REMBOLD. — *Lieb. Annal.*, 1868, 145, 5.

(4) ETTI. — *Monatsh. f. Chem.*, 1881, 2, 262; 1889, 10, 647.

ETTI a préparé son tanin en partant d'organes secs, dans lesquels ce principe a subi des dégradations profondes (condensation, déshydratation, etc.). C'est pour cette raison que le tanin qu'il a isolé contient moins d'oxygène.

1° Titrage volumétrique du tannate de strychnine
par la méthode chromique.

Vu les difficultés présentées par le dosage pondéral (v. p. 58-67), nous avons essayé de déterminer la proportion de tannate de strychnine par la méthode chromique. Voici les résultats obtenus avec une prise d'essai contenant 0 gr. 072 de tanin à l'éther rigoureusement pur, et en faisant varier les lavages, le temps de contact et la durée d'ébullition :

TEMPS de précipitation	LIQUIDE EMPLOYÉ POUR LES LAVAGES du tannate de strychnine			
	160 cm ³ d'eau distillée	50 cm ³ de sol. saturée de tannate de strychnine	50 cm ³ de sol. de sulfate de strychnine à 1 %	25 cm ³ de sol. saturée de sulfate de strychnine, glacée
	TEMPS D'ÉBULLITION			
	une heure			deux heures
10 minutes.	17,80	18,38	23,90	28,50
30 »	17,75	18,50	23,95	28,10
1 heure. .	17,55	18,60	23,80	28,35
5 » . .	17,70	18,35	23,85	28,40
12 » . .	17,25	18,70	23,85	28,40

Théoriquement, si le précipité de tannate de strychnine répondait à la formule $C^{22}H^{24}N^2O^2$. $C^{14}H^{10}O^9$, il aurait fallu employer au moins 34 cc de solution normale de bichromate pour la prise d'essai.

Vérification de la composition et de la pureté des tannates de strychnine. — Nous nous sommes efforcé de nous rendre compte si les tannates de strychnine résultaient bien de la combinaison moléculaire du tanin et de la strychnine, et nous avons préparé, à cet effet,

différentes combinaisons. Les unes, que nous qualifierons de *vrais tannates*, sont obtenues en précipitant les tanins purs par une solution alcoolique de strychnine (base). Les autres, ou *faux tannates*, sont préparées en précipitant les tanins purs par une solution saturée de sulfate de strychnine. Dans les deux cas, les précipités ont été lavés avec les solutions ayant servi pour la précipitation. Les tannates obtenus ont été desséchés dans le vide sulfurique pendant plusieurs jours, puis à 102° jusqu'à poids constant. Abandonnés à l'air, ils reprenaient 11 à 12 p. 100 d'eau. Les prises d'essais voisines de 0 gr. 100 (exactement pesées) ont été dosées par le mélange argento-sulfo-chromique :

0 gr. 100 DU TANNATE OBTENU avec le tanin pur de :	NOMBRE de cm ³ de Cr ² O ⁷ K ² N	
	employé	théoriquement
A) <i>Vrais tannates</i> de strychnine :		
Noix de galle d'Alep . . .	21,15	22,87
Écorce de chêne (<i>Q. Robur</i>)	23,18	23,93
<i>Geranium pratense</i>	21,26	22,59
<i>Geranium sylvaticum</i>	22,00	23,17
Tormentille	24,55	25,65
0 gr. 100 de strychnine . .	30,54	30,56
B) <i>Faux tannates</i> :		
Noix de galle d'Alep . . .	19,80	21,09
Écorce de chêne (<i>Q. Robur</i>)	21,05	21,22
<i>Geranium pratense</i>	19,40	20,64
<i>Geranium sylvaticum</i>	20,00	21,22
Tormentille	22,35	23,70
0,100 de sulfate de strychnine anhydre	26,60	26,65
Les faux tannates de cinchonine :		
Noix de galle d'Alep . . .	19,75	—
Tormentille	23,20	—

Conclusion.

1° Les différents essais que nous venons de relater montrent qu'aucun des tannates de strychnine obtenus ne contient 1 molécule de strychnine combinée à 1 molécule d'acide digallique : $C^{22}H^{21}N^2O^2$, $C^{14}H^{10}O^9$. En effet, nous n'avons trouvé, en aucun cas, un tannate contenant 52 p. 100 de strychnine. Nous pensons que si TROTMAN et HACKFORD ont conclu au digallate de strychnine, c'est que le tannate de strychnine qu'ils ont analysé avait été préparé d'une façon tout à fait différente (lavage à l'eau, à l'alcool et enfin à l'éther) de celle qu'ils suivirent dans leurs dosages habituels. Il convient du reste de remarquer que tous les chimistes admettaient à cette époque l'hypothèse de SCHIFF, d'après laquelle le tanin de noix de galle correspondait à l'acide digallique (un depside).

2° Les tannates de strychnine ont une composition variable, dépendant de la nature du tanin, du mode de préparation, de la température, de la concentration, du pH, etc. Leur teneur en alcaloïde varie de 25 à 43 p. 100.

3° Les faux tannates n'ont pas une composition plus constante que les précédents. Leur teneur en alcaloïde est plus faible. L'acide minéral se trouve dans leur molécule; c'est ainsi qu'ils ne renferment pas plus de 20 à 38 p. 100 de strychnine.

4° La précipitation des tanins par les alcaloïdes ou leurs sels n'est jamais complète. Les tanins de tormen-

tille, de fougère mâle, de marronnier, de ratanhia, de vin et, semble-t-il, tous les autres tanins catéchiques, ne précipitent que très incomplètement.

Nos observations semblent en parfait accord avec celles de HOOPER (1). Cet auteur a dosé la cinchonine dans les tannates obtenus, en partant de sulfate de cinchonine et de gallotanin pur. Il a trouvé 76,8 à 77,8 p. 100 de tanin et 22 à 23 p. 100 de cinchonine. D'autre part, BIGINELLI (2), en étudiant la composition et surtout la teneur en quinine dans les divers tannates de quinine inscrits dans certaines pharmacopées européennes, affirme que ces tannates n'ont jamais une composition constante et qu'ils renferment 18 à 39 p. 100 de quinine. D'après lui, l'acide minéral (si on est parti d'un sel de quinine) se trouve toujours dans la molécule du tannate.

2° — Titrage volumétrique des tannoformes
(tanins catéchiques) par la méthode chromique.

Nous sommes arrivé, après de nombreuses expériences, à constituer une technique permettant de doser les tanins catéchiques purs (v. réactions de différenciation, p. 19. Voici le mode opératoire adopté :

Dans un erlen en verre Pyrex de 150 à 200 cc, on introduit 10 cc d'une solution contenant 0,3 à 0,4 pour cent de tanin catéchique, 5 cc de formol à 40 p. 100

(1) HOOPER. — *The Analyst.*, 1925, 589, 162.

(2) BIGINELLI. — *Gazz. Chim. Ital.*, 1907, 2, 205-226.

et 2 cc 5 d'acide chlorhydrique pur. On adapte l'erlen à un réfrigérant ascendant et on porte à l'ébullition durant 30 minutes.

Le produit de la réaction est refroidi dans un courant d'eau, puis décanté soigneusement en évitant d'entraîner le précipité sur le creuset-filtre Jena (Schotte 1 G/4). Le précipité resté dans l'erlen est lavé de la façon suivante : on ajoute 100 cc d'eau distillée bouillante, on porte à l'ébullition pendant 5 minutes. On laisse reposer 3 à 4 minutes et on décante encore très chaud sur le même creuset. On répète ce lavage 3 à 4 fois en utilisant chaque fois 50 cc d'eau bouillante, jusqu'à obtention d'un filtrat incolore (1). Refroidi et saturé d'acétate de sodium, il ne doit plus réagir au contact de l'alun de fer; ce qui indique que le galloforme et les tannoformes solubles (ceux des tanins pyrogalliques) sont éliminés. En général, 200 à 300 cc d'eau suffisent, mais le volume d'eau dépend de la nature des tanins (mixtes). Finalement, le tannoforme insoluble, entraîné sur le creuset, est dosé par le mélange argento-sulfo-chromique.

Le creuset contenant le précipité lavé est introduit dans un ballon Pyrex à large ouverture, renfermant 20 cc de mélange argento-sulfo-chromique (10 cc de solution normale de bichromate, 0 gr. 300 de nitrate d'argent cristallisé et 10 cc d'acide sulfurique pur à 66° Bé) préalablement préparé et tiédi. Après avoir adapté le ballon au réfrigérant ascendant, on le chauffe

(1) Pour activer la filtration et les lavages, il est bon de placer le creuset sur une fiole à filtration dans le vide.

doucement au moyen de la veilleuse d'un bec Bunzen. Lorsque le tannoforme est dissous, on porte à l'ébullition pendant 10 minutes.

Le contenu du ballon est alors refroidi sous un courant d'eau, transvasé dans un matras jaugé de 100 cc. Puis le ballon Pyrex et le creuset sont lavés avec de l'eau distillée à plusieurs reprises, afin de tout entraîner dans le matras jaugé. Après refroidissement sous un courant d'eau, on complète à 100 cc avec de l'eau distillée. La solution ainsi diluée doit présenter une teinte jaune verdâtre, avec reflets rougeâtres par transparence.

10 cc de cette dilution, exactement mesurés, sont introduits dans un erlen, additionnés de 50 à 70 cc d'eau distillée et de quelques cristaux de chlorure de sodium (pour précipiter l'excès d'argent); on détermine l'excès d'acide chromique à l'aide d'une solution décimormale de sulfate ferreux versée jusqu'à l'apparition d'une teinte vert-bleu très franche. A ce moment une goutte de liquide portée, au moyen d'un agitateur en verre, au contact de gouttelettes de solution de ferricyanure de potassium à 1 p. 100 (placées sur une soucoupe de porcelaine) doit déterminer la production immédiate d'une coloration bleue.

Si l'on a employé, par exemple, 4 cc de solution de sulfate ferreux, on en conclut que : $10 - 4 = 6$ cc de bichromate de potassium (normal) ont été réduits par le tannoforme. Ce chiffre, multiplié par un facteur spécifique pour chaque tannoforme (*v. p. suivante*), donne le poids réel de tannoforme contenu dans la prise d'essai.

Ex. : Le tannoforme, obtenu avec 10 cc d'une solution de tanin de tormentille, avait réduit 6 cc de solution normale de bichromate. $6 \times 0.00526 = 0$ gr. 03156, soit 3 gr. 156 de tannoforme par litre, ou $6 \times 0.005 = 0$ gr. 0300, soit 3 gr. de tanin par litre.

Détermination du pouvoir réducteur des divers tannoformes
vis-à-vis du mélange argento-sulfo-chromique
(facteur de réduction).

Avant de pouvoir procéder aux dosages volumétriques des tannoformes, c'est-à-dire des tanins catéchiques, il est indispensable de déterminer le poids de tannoforme susceptible de réduire 1 cc de solution normale de bichromate de potassium, c'est-à-dire le facteur par lequel il faut multiplier le nombre de centimètres cubes de bichromate normal employés, pour obtenir la quantité pondérale de tannoforme.

A cet effet, nous avons préparé toute une série de tannoformes (catéchiques, insolubles), qui furent lavés comme s'il s'agissait d'un dosage volumétrique.

Les tannoformes de tormentille, de l'écorce de chêne, de *Geranium sylvaticum* et de *Geranium pratense* ont été obtenus en faisant bouillir pendant 30 minutes, dans un erlen, avec le réfrigérant ascendant, 200 cc de solution tannique à 0,36 p. 100, 100 cc de formol à 40 p. 100 et 50 cc d'acide chlorhydrique pur. Après refroidissement et décantation, les précipités ont été lavés soigneusement, séchés dans le vide, puis à 102° et pesés.

Seul, le tannoforme de fougère mâle a été préparé en partant d'un extrait aqueux (rhizomes frais).

QUANTITÉS DE TANNOFORMES
fournis par 100 gr de tanins

Tormentille des tourbières . .	96
Tormentille des bruyères . .	107,50
Fougère mâle	108
Ecorce de chêne	78
<i>Geranium sylvaticum</i>	54
» <i>pratense</i>	20

Des quantités de ces tannoformes secs, voisines de 0 gr. 100, ont été pesées très exactement, dissoutes à une douce chaleur dans le mélange argento-sulfo-chromique, puis soumises à l'ébullition pendant 10 minutes, etc.

Ex. : 0 gr. 1027 de tannoforme de chêne à 10,95 pour cent d'eau sont dissous dans 40 cc de mélange argento-sulfo-chromique (20 cc de bichromate normal, 20 cc d'acide sulfurique pur et 0 gr. 600 de nitrate d'argent), etc.

0 gr. 1027 de tannoforme desséché = 0 gr. 09155 de tannoforme anhydre ont réduit 17 cm³ 40

0 gr. 100 de tannoforme anhydre
réduiront 19 cm³ de Cr²O⁷K² N.

$$0,100 : 19 = 0,00526 \text{ f.}$$

0,00526 est le chiffre par lequel il faut multiplier le nombre de centimètres cubes employés, pour obtenir le poids de tannoforme. Si l'on voulait exprimer en tanin catéchique, ce chiffre serait égal à 0,005.

En opérant de la même façon sur 0 gr. 100 de tanno-
formes, nous avons trouvé les facteurs suivants :

	NOMBRE de cm ³ de Cr ² O ⁷ K ² N	Facteur exprimé en	
		tannoforme	tan. catéchique
Tormentille	19	0,00526	0,005
Fougère mâle	17,60	0,00568	0,00542
<i>Geranium pratense</i> . . .	17,22	0,00581	0,00553
<i>Geranium sylvaticum</i> . .	16,82	0,00594	0,00566
Écorce de chêne.	19	0,00526	0,005
Tannoforme commercial	18,20	0,0055	—

Dès lors, connaissant le pouvoir réducteur de
chacun des tannoformes, il est possible de doser volu-
métriquement les tanins catéchiques et de déterminer
la teneur des tanins mixtes en tanin catéchique.

A) Dosage des tanins catéchiques purs.

I. — *Acide tormentillotannique* des bruyères (1).

Les dosages ont été effectués sur 10 cc d'une solu-
tion contenant 0,36 p. 100 de tanin pur de tormentille.

	Nombre de cm ³ de Cr ² O ⁷ K ² N utilisés
Précip. avec formaldéhyde et ac. chlorhydrique	7,06
Même op. en présence de 0,020 de tanin officinal	7,10
— en présence de 0,020 d'acide gallique . .	7,10
$7,10 \times 0,00526 = 0 \text{ gr. } 373 \text{ de tannoforme}$ ou $7,10 \times 0,005 = 0 \text{ gr. } 0355 \text{ de tanin}$ (théoriquement 0,036).	

(1) REMBOLD. — *Lieb. Ann.*, 1868, 145, 5.

Conclusion.

1° L'acide tormentillotannique de la tormentille des bruyères est précipité quantitativement (98,6 pour cent).

2° La présence de tanin pyrogallique et d'acide gallique n'a aucune influence sur les résultats.

II. — Rhizomes de tormentille des bruyères.

Rhizomes frais, ne présentant aucune trace de rouge de tormentille, récoltés au mois de décembre.

	P. 100 d'organes	
	frais	anhydres
Rhizomes de tormentille (à 60 % d'eau)	11,30	28,30

Acide tormentillotannique des tourbières.

Les dosages ont été effectués sur 10 cc d'une solution contenant 0,36 p. 100 de tanin.

	Nombre de cm ³ de Cr ² O ⁷ K ² N utilisés
Précip. avec formol et acide chlorhydrique .	6,60
— en présence de 0,02 de tanin officinal .	6,65
— en présence de 0,02 d'acide gallique .	6,63

$$6,63 \times 0,00526 = 0,035 \text{ de tannoforme insoluble}$$

$$6,63 \times 0,005 = 0,0333 \text{ de tanin catéchique (au lieu de 0,036)}$$

Conclusion.

Le tanin de la tormentille des tourbières n'est pas un tanin catéchique pur, car le filtrat, saturé d'acétate de sodium, se colore en bleu-violet au contact de l'alun de fer. D'après les dosages volumétriques et pondéraux, il contient 92 p. 100 environ de tanin catéchique.

B) Détermination de la teneur des tanins mixtes
en tanin catéchique.

Le tanin de l'écorce du *Quercus Robur* est un tanin mixte (1), c'est-à-dire un mélange des tanins pyrogallique et catéchique (les produits d'hydrolyse sulfurique sont : acide gallique, acide ellagique et rouge quercique).

Il faut remarquer que tous les procédés de préparation des tanins purs ne conduisent pas aux mêmes résultats (v. p. 45 et 87). Nous avons préparé du tanin de l'écorce de chêne par différents procédés, utilisant toujours un échantillon moyen, bien homogène.

1° *Tanin à l'acétate neutre de plomb.* — Il est constitué par des précipités moyens obtenus avec l'acétate neutre de plomb (Courtonne), décomposés par l'hydrogène sulfuré, et dont les solutions ont été évaporées dans le vide à la température ordinaire. Ce tanin est, en somme, préparé par un procédé simple et primitif.

Solution à 0,3606 p. 100, parfaitement limpide, colorée en jaune ambré, acide à l'hélianthine. Les dosages ont été effectués sur 10 cc de cette solution :

	Nombre de cm ³ de Cr ² O ⁷ K ² N
Le précipité (tannoforme) n'est pas lavé	5,50
— est lavé soigneusement	5,10
5,10 × 0,00526 = 0 gr. 0268 de tannoforme catéchique fourni par 0 gr. 03606 de tanin . . .	74,3 %
5,10 × 0,005 = 0 gr. 0255 de tanin catéchique ou	70 %

-
- (1) GRABOWSKI. — *Lieb. Ann.*, 1868, 145, 4.
ETTI. — *Monatsh. für Chemie*, 1881, 2, 262 ; 1889, 10, 647.
ROCHLEDER. — *Lieb. Ann.*, 1880, 202, 270.
LÆWE. — *Ztschr. für anal. Chem.*, 1882, 20, 270.
BÆTTINGER. — *Ber. Chem. Ges.*, 1881, 14, 1598 ; 1883, 16, 2710.

Ajoutons que le même tanin, par hydrolyse (SO^4H^2 à 5 p. 100, 72 h.) nous a fourni 68,6 p. 100 de rouge quercique, insoluble dans l'eau chaude.

2° *Tanin purifié.* — C'est le tanin précédent, lavé à l'éther pour éliminer l'acide gallique, la quercétine et les traces d'acide ellagique, puis repris avec de l'eau et desséché dans le vide sulfurique. Ce tanin est brun foncé, et donne une solution opalescente (à 0,4 p. 100), brun rougeâtre, acide à l'hélianthine.

Les dosages ont été effectués sur 10 cc d'une solution limpide (centrifugée) contenant 0,36 p. 100 de tanin, comme précédemment. Nous avons trouvé 75,4 p. 100 de tannoforme et 71 p. 100 de tanin catéchique.

Notons que le même tanin, par hydrolyse sulfurique, nous a donné 70 p. 100 de rouge quercique insoluble.

3° *Acide quercitannique.* — Nous désignons ainsi le tanin précédent dissous dans la plus petite quantité possible d'alcool et précipité ensuite avec de l'éther. C'est, d'ailleurs, le tanin sur lequel ont porté tous les essais (qualitatifs et quantitatifs) mentionnés dans ce mémoire. Le produit obtenu est brun foncé et donne une solution opalescente, acide à l'hélianthine. Il nous a fourni 78 p. 100 de tannoforme, ce qui correspond à une teneur de 74 p. 100 de tanin catéchique. Nous avons obtenu, par hydrolyse sulfurique, 73 p. 100 de rouge quercique insoluble.

On voit par ces résultats que c'est le tanin le plus purifié qui contient la plus grande fraction catéchique.

4° *Ecorce de chêne.* — 100 gr. d'écorce fraîche contenant 9 gr. 92 de tanin (dosé par le procédé zincique, *v. p. suiv.*) nous ont donné 5 gr. 85 de tannoforme insoluble, ce qui fait 64 p. 100 seulement. Par conséquent, dans l'écorce fraîche, il n'y a que 61 p. 100 de tanin (fraction catéchique).

GERANIUM SYLVATICUM

1° *Le tanin pur* fournit 54 p. 100 de tannoforme, soit 51,4 en tanin catéchique.

2° *Les rhizomes frais* fournissent environ 45 p. 100, soit 42,8 en tanin catéchique.

GERANIUM PRATENSE

1° *Le tanin pur* fournit 20 p. 100 de tannoforme, soit 19 en tanin catéchique.

2° *Les rhizomes frais* fournissent environ 13 p. 100, soit 12,4 en tanin catéchique.

Conclusion.

Nous trouvons, dans tous les cas examinés, une différence sensible entre les tanins contenus dans les organes frais et les mêmes tanins isolés à l'état pur; plus la purification est poussée, plus grand est cet écart. La teneur en tanin catéchique est toujours plus élevée dans les tanins (mixtes) isolés à l'état pur, parce que leur préparation (*v. p. 89*) exige des lavages et des précipitations avec de l'éther. Or, nous avons remarqué

que les tanins pyrogalliques sont plus solubles dans l'éther que les tanins catéchiques. C'est pour cette raison que les tanins catéchiques mixtes, isolés et purifiés, contiennent une plus grande fraction catéchique que les mêmes tanins contenus dans les organes frais.

3° — Titrage volumétrique du tannate de zinc
par la méthode chromique.

Nous sommes arrivé, après de nombreux essais, à constituer un réactif susceptible de précipiter complètement les tanins à l'état de tannates de zinc, sans toucher aux acides gallique et ellagique, ni aux autres composés phénoliques simples, ni aux matières colorantes flavoniques et aux anthocyanes qui accompagnent les tanins dans les végétaux. Ce réactif est préparé de la façon suivante : dans un ballon jaugé de 1 litre, on introduit 40 gr. d'acétate de zinc cristallisé, que l'on dissout dans 800 cc d'eau distillée environ. On ajoute 80 cc d'ammoniaque pure à 20,26 p. 100 en poids (= 22° B.; $d = 0,925$) et on complète à 1.000 cc avec de l'eau distillée. Ce réactif doit être conservé en petits flacons (125 à 200 cc) bouchés soit à l'émeri, soit avec un bouchon de caoutchouc. Sans cette précaution, il perd lentement une quantité notable de gaz ammoniac et précipite non seulement les tanins, mais aussi la plupart des composés phénoliques simples.

Mode opératoire.

Le liquide extractif ayant été amené au titre approximatif de 0,3 à 0,4 p. 100 (de tanin), on en intro-

duit 10 cc dans un tube à centrifugation (Pyrex) de 25 à 30 cc de capacité (6 cm de hauteur et 3 cm de diamètre). On ajoute 10 cc de réactif zincique, on mélange à l'aide d'un petit agitateur et, aussitôt, on centrifuge pendant 2 à 3 minutes. On décante soigneusement, et le plus complètement possible, la liqueur surnageante; puis on ajoute 20 cc d'eau ammoniacale à 5 p. 100 (5 gr. d'ammoniaque pure p. 100 gr. d'eau). On mélange à l'aide de l'agitateur et on centrifuge de nouveau pendant 2 à 3 minutes. On décante comme précédemment. On lave avec un peu d'eau distillée l'extérieur du tube et on introduit celui-ci dans le ballon Pyrex réservé aux dosages. Ce dernier a reçu, préalablement, 10 cc de solution normale de bichromate de potassium et 0 gr. 300 de nitrate d'argent cristallisé. On lave l'agitateur et les parois du ballon avec 5 à 7 cc de solution d'acide sulfurique à 10 p. 100, et on adapte le ballon au réfrigérant ascendant. Par l'entonnoir de celui-ci, on ajoute alors, lentement, 20 cc d'acide sulfurique pur, concentré, exempt de matières organiques. On imprime au ballon un mouvement circulaire, pour éviter une élévation brusque de la température et afin que le tannate de zinc se dissolve lentement.

On porte alors à une douce ébullition pendant 10 minutes (1). On cesse le chauffage et on fait refroidir le ballon dans un courant d'eau. On transvase son contenu dans un matras jaugé de 100 cc, puis on lave

(1) Pour certains tanins (gallotanin), 3 à 4 minutes d'ébullition suffisent, mais, pour que les résultats soient comparables, nous avons maintenu toujours 10 minutes d'ébullition.

à plusieurs reprises, le ballon et le tube à centrifugation avec de l'eau distillée pour que le transvasement soit quantitatif. Après refroidissement, on complète à 100 cc. La dilution doit présenter une teinte jaune verdâtre, avec reflets rougeâtres par transparence.

10 cc de cette solution, exactement mesurés, sont introduits dans un erlen, additionnés de 50 à 70 cc d'eau distillée et de quelques cristaux de chlorure de sodium (pour précipiter l'excès d'argent). On détermine l'excès d'acide chromique à l'aide de la solution décimale de sulfate ferreux (*v. p.* 93) jusqu'à l'apparition d'une teinte bleu-vert très franche. Une goutte de liquide portée, au moyen d'un agitateur en verre, au contact de gouttelettes de solution de ferri-cyanure de potassium à 1 p. 100 (sur une soucoupe de porcelaine) doit y déterminer la production immédiate d'une coloration bleue (ferri-cyanure ferreux).

Soit par exemple 3 cc 78 de solution décimale de sulfate ferreux. $10 - 3,78 = 6$ cc 22 de solution normale de bichromate de potassium ont été réduits par le tanin contenu dans la prise d'essai (10 cc). Ce nombre, multiplié par un facteur spécifique, établi pour chaque tanin (*v. p. suiv.*), donne la proportion de tanin en expérience.

Exemple : Le précipité de tannate de zinc correspondant à 10 cc d'une solution de tanin de chêne, a réduit 6 cc 22 de bichromate normal : $6,22 \times 0,00582 = 0$ gr. 0362 de tanin dans 10 cc ou 3 gr. 62 par litre.

**Détermination du facteur de réduction
des différents tanins.**

Il est nécessaire d'effectuer un dosage préalable sur les tanins purs, afin de pouvoir déterminer la quantité de principe actif correspondant à 1 cc de solution normale de bichromate de potassium. On obtient ainsi le coefficient par lequel il faut multiplier le nombre de centimètres cubes de solution normale de bichromate utilisés pour obtenir la proportion de tanin existant réellement dans la prise d'essai.

Les deux exemples ci-dessous montrent la méthode suivie pour déterminer le facteur de réduction.

a) *Acide quercitannique*. — Le dosage a été effectué sur 10 cc de solution à 0 gr. 362 p. 100 de tanin (anhydre). Le tannate de zinc contenu dans le tube à centrifugation a été traité par 20 cc de mélange argento-sulfo-chromique; 10 minutes d'ébullition, etc. On a utilisé 3 cc 78 de solution décimale de sulfate ferreux : $10 - 3,78 = 6$ cc 22 de solution normale de bichromate.

0 gr. 0362 (= 10 cm ³ de sol. tann.)	
ont réduit.	6 cm ³ 22 de Cr ² O ⁷ K ² N
0 gr. 100 du même tanin réduiront.	17 cm ³ 20 de Cr ² O ⁷ K ² N

$$\frac{0,100}{17,20} = 0,00582 (= f)$$

b) *Vérification à l'aide d'une solution de titre inconnu* (du même tanin). — 10 cc, précipités et dosés, ont exigé : 5 cc 8 de Cr²O⁷K²N.

$5,8 \times 0,00582 = 0$ gr. 0337 dans 10 cm³ = 0,337 % de tanin

En effet, 100 cc de la même solution donnent un résidu de 0 gr. 337.

Nous avons déterminé, de la même façon, les facteurs des autres tanins purs :

Réduction pour 10 cgt. de tanin de :	Nombre de cm ³ de Cr ² O ⁷ K ² N	Facteur
Noix de galle d'Alep (à l'éther) . .	15,20	0,0066
<i>Geranium pratense</i>	14,45	0,00693
<i>Geranium sylvaticum</i>	15,60	0,00642
Ecorce de chêne (<i>Q. Robur</i>) . . .	17,20	0,00582
Tormentille (<i>Potentilla Tormentilla</i>)	19,80	0,0051

Comme on peut s'en rendre compte en examinant ce tableau, les coefficients trouvés concordent parfaitement avec la constitution des différents tanins et leur teneur en oxygène :

1° Les tanins pyrogalliques, riches en oxygène (43 à 48 p. 100), réduisent peu de bichromate et possèdent, par conséquent, le facteur le plus élevé (acide gallotaninique, $f = 0,0066$), surtout ceux de nature glucosidique (*Geranium pratense*, $f = 0,0069$);

2° Les tanins catéchiques, pauvres en oxygène (30 à 35 p. 100), réduisent davantage de bichromate et possèdent le facteur le plus faible (tormentille, $f = 0,0051$);

3° Les tanins mixtes, qui possèdent une teneur en oxygène intermédiaire (35 à 42 p. 100), ont un facteur moyen (écorce de chêne, $f = 0,0058$).

Les coefficients mentionnés dans le tableau de la page 96, et qui ont été déterminés en partant de tanins,

isolés à l'état pur, sont plus exacts et plus démonstratifs, car ils ne sont pas entachés d'erreurs expérimentales dues à la précipitation zincique, au lavage, etc.

Il est à présumer qu'en préparant suffisamment d'espèces de tanins purs, il serait possible de dresser un tableau d'équivalence susceptible de répondre à tous les cas qui peuvent se présenter. Nous nous proposons, d'ailleurs, de revenir ultérieurement sur cette question.

Les écarts enregistrés entre les différents coefficients semblent peu importants, au premier abord, parce qu'ils correspondent à 10 centigr. de substance; mais il est facile de se rendre compte qu'ils sont loin d'être négligeables. C'est ainsi que si l'on appliquait à la tormentille le facteur de la noix de galle, on obtiendrait un excédent de tanin de 30 p. 100. Ainsi apparaît, d'une façon indubitable, l'inexactitude des méthodes basées uniquement sur les propriétés réductrices du tanin de noix de galle.

Vérification de la méthode.

Influence des composés phénoliques simples,
des matières colorantes flavoniques, des acides organiques,
des glucides et d'autres composés communs
dans les végétaux.

Nous avons effectué toute une série de dosages sur 10 cc d'une solution contenant 21 milligr. de tanin officinal et 21 milligr. d'un non-tanin (polyphénols, glucides, etc.) (1). Dans le tableau comparatif ci-

(1) L'acide ellagique et l'aloès n'étant que peu solubles dans l'eau, nous en avons préparé des solutions saturées et filtrées.

dessous, nous donnons les résultats obtenus en suivant les différentes techniques à l'acétate de zinc ammoniacal. Nous avons déterminé, au préalable, le pouvoir réducteur (c'est-à-dire le nombre de centimètres cubes de bichromate normal réduits par 21 milligrammes) du tanin officinal et de chacun des non-tanins examinés.

Théoriquement, si le tanin seul était précipité et dosé, il faudrait en trouver 21 milligr. Nous avons obtenu, du reste, les mêmes résultats en substituant d'autres tanins (chêne, géraniums, tormentille) au tanin officinal.

Pour une prise d'essai contenant 21 mg. de tanin et 21 mg. des corps suivants :	MALVEZIN	MICHEL- DURAND	SISLEY	Personnel- lement
Acide tartrique . . .	21	15 (71 %)	20 (95 %)	21 (100 %)
Acide citrique . . .	21	15	20	21
Acide malique . . .	28,4	15	20	21
Acide oxalique . . .	21	15	20	21
Acide gallique . . .	37	29	19	21
Pyrogallol.	40	29	19	21
Acide ellagique . . .	21,8	15	20	21
Phloroglucine . . .	40	29	20	20,8 (99 %)
Hydroquinone . . .	43	25	20	20,8
Résorcine	46 (220 %)	32 (150 %)	20	20,9
Aloès	22	20	20	21
Gomme arabique . .	35	18	18 (86 %)	20,9
Asparagine	33	18	18	21
Dextrine	33	15	18	21
Saccharose	26	15	20	21

Comme on peut s'en rendre compte par l'examen de ce tableau, les non-tanins n'exercent aucune in-

fluence sur la technique de SISLEY et la nôtre. Par contre, les résultats fournis par la méthode de MICHEL-DURAND, et surtout par celle de MALVEZIN, sont faussés par la présence des composés phénoliques simples. En effet, ces corps sont précipités à chaud et leurs composés zinciques (de même que ceux des tanins) ne sont que partiellement solubles dans l'eau bouillante.

La technique de MALVEZIN est celle qui fournit les résultats les moins exacts, car, exception faite des acides tartrique et citrique (qui ne précipitent pas à chaud), elle dose comme tanin toutes les autres substances essayées (non-tanins).

Dans le cas du tanin officinal pur, ainsi qu'en présence d'un cristalloïde (non-tanin), la technique de SISLEY fournit des résultats très satisfaisants. Par contre, les résultats sont faussés (diminués) lorsque les tanins sont accompagnés de substances colloïdales. En effet, la présence de celles-ci est une des causes d'adsorption, de filtration lente et, par suite, de brunissement et d'insolubilisation. Un autre inconvénient réside dans ce fait que la plupart des tanins catéchi-ques (notamment ceux de tormentille, de marronnier, de ratanhia, de fougère mâle, du vin rouge), ne précipitent que partiellement.

La technique que nous avons adoptée permet de précipiter complètement les tanins sans toucher aux substances qui accompagnent généralement ces principes dans les végétaux. Il convient toutefois de signaler que, dans certaines drogues extrêmement riches en alcaloïdes, l'ammoniaque contenue dans le réactif zin-

cique peut provoquer une précipitation de la base alcaloïdique. Mais celle-ci ne fausse pas les résultats, car les alcaloïdes ne sont oxydés par le mélange chromique qu'après un chauffage de plusieurs heures.

Dosage des tanins dans quelques plantes indigènes
par la méthode à l'acétate de zinc modifiée.

L'extraction des tanins a toujours été faite sur des organes fraîchement récoltés et en parfait état. Dans tous les cas, nous avons préparé un échantillon moyen en partant d'une grande quantité d'organes, et nous en avons déterminé la teneur en eau, par chauffage à l'étuve à 102°-105° jusqu'à poids constant. La préparation des solutions extractives a été faite par le procédé décrit p. 83, c'est-à-dire d'abord à froid, avec l'eau acidulée (0,15 à 0,20 p. 100 d'acide sulfurique ou d'acide oxalique) = *Liquide d'épuisement à froid*, puis avec l'eau chaude (B. M.) = *Liquide d'épuisement du marc*.

Les matières solubles totales ont été déterminées par le poids de résidu sec laissé par chacun des liquides d'épuisement.

Les tanins ont été dosés sur 10 cc, par précipitation zincique et oxydation par le mélange argento-sulfochromique.

Les non-tanins correspondent aux matières solubles totales, diminuées de la proportion de tanins.

Exemple : Dosage du tanin dans l'écorce de chêne.
 — 100 gr. d'écorce fraîche ont été épuisés par 1.500 cc d'eau acidulée à froid (liq. 1) ; et 1.500 cc d'eau chaude (liq. 2).

- 1° 10 cm³ du liquide 1, précip. par le réactif zincique et dosés par la méthode chromique, ont exigé 7 cm³ 30 de Cr²O⁷K² N
- 2° 10 cm³ du liquide 2, traités de la même façon. 4 cm³ 10 de Cr²O⁷K² N
- 1) $7,30 \times 0,00582 = 0$ gr. 0425 du tanin dans 10 cm³ 6 gr. 37 dans 1.500 cm³
- 2) $4,10 \times 0,00582 = 0$ gr. 0238 du tanin dans 10 cm³ = $\frac{3 \text{ gr. } 57}{9 \text{ gr. } 94}$ dans 1.500 cm³
 100 gr. d'organes frais.

	Tanin dans 100 gr. d'organes	
	frais	anhydres
Ecorce de chêne (à 59 % d'eau).	9,94	24,24

De la même façon, nous avons dosé les tanins dans les rhizomes de *Geranium pratense*, de *Geranium sylvaticum* et de tormentille (*Potentilla Tormentilla*).

Ecorce de chêne indigène (1).

Ecorce verte récoltée, en octobre, sur de jeunes rameaux âgés de 2 à 4 ans et ne présentant aucune trace de rouge de chêne. Humidité, 59 p. 100.

(1) Toutes les écorces de chêne que nous avons étudiées proviennent du *Quercus Robur* var. *sessiliflora*.

a) LIQUIDE D'ÉPUISEMENT A FROID. — Parfaitement limpide, jaune ambré, ne précipitant pas à la longue.

Matières solubles totales. . gr.	15,96
Tanin —	<u>6,37</u>
Non tanin gr.	9,59

b) LIQUIDE D'ÉPUISEMENT DU MARC. — Trouble, précipitant au cours du refroidissement.

Ce liquide ne pouvant pas être employé sans clarification préalable, nous avons utilisé comparativement la filtration et la centrifugation.

1° *Filtration sur papier-filtre.* — Les premiers 250 cc du filtrat doivent être rejetés, car ils contiennent moins de tanin que les suivants (adsorption par le filtre). Au fur et à mesure, le liquide filtré est parfaitement limpide; mais pour obtenir les 120 à 130 cc nécessaires pour les essais, il faut parfois attendre 24 heures. Pendant ce temps, une certaine quantité de tanin subit une dégradation plus ou moins profonde, tandis que l'autre est adsorbée par les matières pectiques, mucilagineuses, amylacées et autres substances colloïdales solubilisées par l'eau chaude et précipitant par refroidissement. Ce précipité très complexe, de nature colloïdale, retient une notable proportion de tanin.

2° *Centrifugation.* — Une centrifugation de 30 minutes au maximum a toujours suffi pour obtenir une liqueur limpide.

Résultats obtenus	Filtration	Centrifugation
Matières solubles totales . gr.	6,80	7,06
Tanin —	<u>3,25</u>	<u>3,57</u>
Non tanin gr.	3,55	3,49

	Tanin dans 100 gr. d'organes	
	frais	anhydres
Ecorce de chêne (59 % d'eau)	9,94	24,24

Procédé industriel d'extraction des tanins.

Pour vérifier l'avantage que présente l'extraction préalable à froid avec l'eau acidulée, nous avons procédé, comparativement, à un épuisement des mêmes organes, en milieu neutre, par l'eau bouillante. Le procédé industriel est également suivi par différents chimistes.

La liqueur obtenue étant trouble, nous avons dû la clarifier par filtration ou par centrifugation.

	Filtration	Centrifugation
Matières solubles totales . gr.	20,10	22
Tanin gr.	8,45	9,10
Non tanin gr.	11,65	12,90

Au lieu de 24,3 p. 100, on trouve 20,6 p. 100. Par conséquent, l'extraction préalable avec de l'eau froide acidulée est préférable à l'épuisement direct par l'eau chaude.

L'écorce de chêne a été analysée par un grand nombre d'auteurs. La plupart des résultats publiés concernent l'écorce sèche. JACOMET mentionne 6,8 à 13,6 pour 100; SCHUTZE, 9,5 p. 100; HUSEMANN et HILGER, 12 à 20 et HANNAUSCH, 16 à 20 p. 100 de tanin. Les chiffres les plus élevés ont été obtenus en partant d'écorce lisse de jeunes rameaux; mais tous les dosages ont été effectués sur les organes secs.

Rhizomes de *geranium pratense* et de *geranium sylvaticum*.

Nous n'avons trouvé, dans les publications scientifiques, que deux indications concernant les tanins des géraniums.

En 1840 (1), MULLER a donné un aperçu de la teneur en matière tannante des rhizomes de six espèces de *Geranium*. Il a trouvé 44 gr. 8 p. 100 de tanin dans le *Geranium pratense* et 26 gr. 4 p. 100 dans le *Geranium sylvaticum*. L'auteur a rapporté ses résultats aux plantes sèches et n'a pas indiqué le procédé de dosage qu'il a suivi.

En 1904 (2), J. DORE a dosé les tanins dans les rhizomes du *Geranium maculatum* et du *Geranium atlanticum*, au moyen de la corde de violon et du permanganate de potassium. Il a trouvé 11,56 p. 100 de tanin dans le premier et 8,42 p. 100 dans le second. DORE a opéré sur les plantes sèches et a pris, comme terme de comparaison, le tanin de noix de galle.

Nous donnons ci-dessous les résultats personnels que nous avons obtenus avec le *Geranium pratense* et le *Geranium sylvaticum*.

1° GERANIUM PRATENSE

Rhizomes frais, ne présentant aucune trace de rouge de géranium, récoltés au mois d'octobre.

(1) MULLER. — *Arch. der Pharm.*, 1840, 21, 29.

(2) J. DORE. — *Th. Doct. Pharm.*, Toulouse, 1904.

a) *Liquide d'épuisement à froid.* — Limpide, jaune d'or, ne précipitant pas à la longue.

Matières solubles totales	18,30
Tanin	11,80
Non-tanins	6,70

b) *Liquide d'épuisement du marc.* — Trouble; clarifié par centrifugation.

Matières solubles totales	10,10
Tanin	6,15
Non-tanins	4,25

c) *Procédé industriel.* — Liquide trouble; clarifié par centrifugation.

Matières solubles totales	26,40
Tanin	16,20
Non-tanins	10,20

	Tanin dans 100 gr. d'organes	
	frais	anhydres
Rhizomes à 67 % d'eau :		
Par notre procédé	17,95	54,39
Par le procédé industriel.	16,20	49,00

2° GERANIUM SYLVATICUM

Rhizomes frais ne présentant aucune trace de rouge de géranium.

RÉCOLTES	Tanin dans 100 gr. d'organes	
	frais	anhydres
Septembre (67 % d'eau) . . .	11,95	36,20
Octobre (66,5 —)	14,00	41,79
Novembre (68 —)	13,45	42,00
Janvier (68 —)	13,90	43,50

Influence de la dessiccation des organes. — 150 gr. d'un échantillon moyen de rhizomes de *Geranium sylvaticum*, récoltés en novembre, ont été divisés en 3 lots :

50 gr. furent épuisés et dosés aussitôt après la récolte ;

50 gr. furent stabilisés par la vapeur d'eau sous pression à 105 degrés ;

50 gr. furent desséchés à l'air libre, à la température du laboratoire.

	Tanin dans 100 gr. d'organes	
	à 68 % d'eau	anhydres
Rhizomes frais	13,45	42,00
— desséchés	11,80	36,90
— stabilisés.	10,60	33,15

Ces résultats montrent que la dessiccation spontanée, de même que la dessiccation après stabilisation, est accompagnée d'une perte notable de tanin.

Les organes stabilisés, notamment, sont colorés en brun, beaucoup plus à l'extérieur qu'à l'intérieur, et surtout à la section. Ce qui indique qu'une certaine quantité de tanin s'est trouvée hydrolysée et insolubilisée pendant l'autoclavage.

Rhizomes de Tormentille.

Rhizomes frais, ne présentant aucune trace de rouge de tormentille, récoltés au mois de décembre (bruyères).

	% d'organes	
	frais	anhydres
Rhizomes à 60 % d'eau . . .	11,45	28,62
Par la méthode au formol . . .	11,30	28,25

Le tanin de la tormentille a été étudié par REMBOLD (1) Il a été dosé par quelques auteurs, dans les rhizomes secs. En 1932, M^{me} GUILLEMIN (2) en a déterminé les proportions de deux manières : le procédé iodométrique de F. JEAN lui a fourni 17,61 à 19,20 pour cent, et la méthode internationale à la poudre de peau, 20,85 à 22,05 p. 100.

**Détermination du pouvoir réducteur
de divers rouges tanniques
vis-à-vis du mélange argento-sulfo-chromique.**

Au cours de l'isolement des tanins à l'état pur, nous avons remarqué que, plus un tanin est coloré, moins il est soluble et plus il est pauvre en oxygène. Les rouges tanniques obtenus en hydrolysant les tanins catéchiques par les acides minéraux étendus et à chaud (v. dégradation des tanins, p. 28) ont été lavés à l'eau bouillante jusqu'à obtention d'un liquide incolore. Les produits ainsi obtenus ont été desséchés dans le vide sulfurique, puis à 102° jusqu'à poids constant. Une quantité voisine de 0 gr. 100 a été pesée très exactement et dosée par la méthode chromique, comme s'il s'agissait d'un tannoforme ou d'un tannate d'alcaloïde.

(1) REMBOLD. — *Lieb. Ann.*, 1868, 145, 5.

(2) GUILLEMIN. — *Plantes à tanin*, *Th. Doct. Pharm.*, Paris, 1933, p. 26.

Voici les résultats obtenus par comparaison avec les tanins correspondants :

	NOMBRE de cm ³ de Cr ² O ⁷ K ² N réduits par 0 gr. 100 de	
	tanin	rouge
<i>Geranium sylvaticum</i>	15,18	17,17
Ecorce de chêne (<i>Q. Robur</i>) .	17,35	19,00
<i>Geranium pratense</i>	14,63	21,50
Tormentille	20,30	25,70
Fougère mâle	—	19,65
Kino (<i>Pterocarpus Marsupium</i>)	—	20,10
Cachou (<i>Acacia catechu</i>). . .	—	22,50

On voit, par ces résultats, que les rouges tanniques (phlobaphènes) exigent plus de bichromate que les tanins correspondants. Ils semblent donc résulter non de l'oxydation des tanins, mais de leur déshydratation ou de leur condensation. Ces essais confirment l'opinion émise en 1883 par ETTI (1), à savoir que les rouges ne sont que les anhydrides des tanins correspondants.

(1) ETTI. — *Monatsh. für Chem.*, 1883, 4, 512.

CONCLUSIONS GÉNÉRALES

Nous avons eu l'occasion, au cours de ce travail, d'étudier et de critiquer les principales méthodes de dosage des tanins dans les végétaux, ainsi que les réactions de caractérisation et de différenciation de ces principes. Mais ce sont surtout les procédés de dosages qui ont retenu notre attention.

La plupart des auteurs ont établi leurs techniques en partant du tanin officinal de noix de galle, et ont eu le tort de vouloir les appliquer aux autres tanins. Or, ces principes sont loin d'avoir la même constitution, ainsi que nous l'avons montré dans les généralités du chapitre I.

Nous avons estimé qu'avant de procéder aux recherches qualitatives et aux dosages, il était nécessaire d'isoler les tanins à étudier. Afin d'obtenir des produits rigoureusement purs, nous sommes parti de plantes fraîches, ne présentant aucune trace de phlobaphènes. Nous les avons épuisées, dès la récolte, par l'eau acidulée, seul dissolvant susceptible, à notre avis, de fournir des solutions extractives limpides et très peu colorées.

En possession des tanins purs, nous avons pu vérifier leur nature, contrôler leurs réactions de caractérisation et de différenciation, et leur appliquer différentes méthodes de titrage. Parmi les nombreux procédés de

dosage, nous avons étudié les suivants, qui nous paraissent les plus recommandables :

- 1° Dosage à l'état de tannate d'alcaloïde ;
- 2° Dosage à l'état de tannoforme ;
- 3° Dosage à l'état de tannate de zinc.

Le premier présente l'avantage de ne précipiter que les tanins ; mais cette précipitation n'étant jamais complète, il doit être considéré comme inapplicable.

Le deuxième précipite presque aussi bien les composés phénoliques simples que les nombreux tanins ; mais la solubilité dans l'eau bouillante des combinaisons fournies tant par les polyphénols que par les tanins pyrogalliques permet d'éliminer ces derniers et d'isoler les tannoformes d'origine catéchique. Cette méthode, appliquée dans les conditions que nous avons déterminées (p. 100), peut donc servir avantageusement pour le dosage des tanins catéchiques purs (tormentille, gambir, cachou, fougère mâle, etc.).

Enfin, le troisième procédé, tel que nous l'avons modifié dans le dernier chapitre (p. 110), présente le grand avantage de précipiter entièrement tous les tanins et de ne pas toucher aux autres composés qui les accompagnent généralement dans les végétaux. C'est la méthode que nous avons adoptée. Elle présente les avantages suivants :

- 1° La durée des manipulations en milieu ammoniacal (précipitation, centrifugation et lavage) ne dépasse jamais 10 minutes ; ce qui est très important, puisque les tanins brunissent et s'insolubilisent en milieu alcalin ;

2° La centrifugation du tannate de zinc présente, sur la filtration, l'avantage d'éviter l'adsorption et l'insolubilisation du tanin, favorisées par la porosité du papier et le milieu alcalin. En outre, le réactif que nous proposons n'étant pas trop ammoniacal, le brunissement des précipités est très faible;

3° Le dosage porte sur la totalité du précipité de tannate de zinc; ce qui évite toute perte au cours des manipulations;

4° Le bichromate présente, sur le permanganate, le grand avantage de fournir une oxydation plus régulière. La fin du titrage est beaucoup plus nette. D'autre part, ainsi que nous l'avons fait remarquer précédemment, l'oxydation par le bichromate est en rapport avec la teneur en oxygène des substances traitées, ce qui n'existe pas avec le permanganate;

5° L'oxydation par le mélange argento-sulfo-chromique permet de suivre le degré de déshydratation et de condensation d'un certain nombre de tanins qui fournissent toute une gamme de rouges tanniques, de moins en moins riches en oxygène et, parallèlement, de moins en moins solubles.

VU ET APPROUVÉ :

Nancy, le 20 janvier 1934.

Le Doyen

de la Faculté de Pharmacie :

P. SEYOT.

Vu :

Nancy, le 19 janvier 1934.

Le Président de Thèse,

P. GILLOT.

VU ET PERMIS D'IMPRIMER :

Nancy, le 22 janvier 1934.

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université.

L. BRUNTZ.

TABLE DES MATIERES

	Pages
INTRODUCTION	v

CHAPITRE PREMIER

Généralités.

A. <i>Constitution chimique</i>	2
B. <i>Classification</i>	8
C. <i>Nomenclature</i>	16
D. <i>Différenciation</i> :	
Stiasny, Procter	17
Réactions colorées avec les sels métalliques	21
Réactions de précipitation	27
Action sur la lumière polarisée	28
Dégradation par action de la chaleur, des acides et des alcalis, à chaud	28
E. <i>Epuisement des organes végétaux</i>	38
F. <i>Isolement des tanins à l'état pur</i>	45

CHAPITRE II

Méthodes de dosage.

<i>Généralités, classification, critiques, recherche d'une méthode :</i>	
A. Dosage par les alcaloïdes	55
B. Dosage par la formaldéhyde	66
C. Dosage par l'acétate de zinc ammoniacal	68
<i>Conclusions</i>	81

CHAPITRE III

Dosage des tanins par le mélange chromique.

A. Méthode adoptée pour l'épuisement des organes végétaux.	83
B. Isolement des tanins à l'état pur	87
C. Dosage des matières organiques par le mélange argento-sulfo-chromique	90
Titration volumétrique du tannate de strychnine. . .	97
Titration volumétrique du tannoforme	100
Titration volumétrique du tannate de zinc; application au dosage des tanins dans quelques plantes . . .	110
Titration volumétrique des rouges tanniques	125
CONCLUSIONS GÉNÉRALES.	127

IMP. LORRAINE, RIGOT & C^{ie}. - NANCY
